

**DIE PROTEINASEN UND IHRE INHIBITOREN
BEIM TRAUMATISCH-HÄMORRHAGISCHEN SCHOCK
UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
MENSCHLICHEN POLYMORPHKERNIGEN LEUKOZYTEN.**

Eine Literaturzusammenstellung

RALPH PAUL HERMANN GÖHRE

1986

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Klinikum Großhadern).

Direktor: Professor Dr med. G. Heberer.

Die Proteinasen und ihre Inhibitoren beim traumatisch-
hämorrhagischen Schock unter besonderer Berücksichtigung
der menschlichen polymorphkernigen Leukozyten.

Eine Literaturzusammenstellung.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Ralph Paul Hermann Göhre

aus

München

1986

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Dittmer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Heberer

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29. 4. 1986

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	Die zunehmende Bedeutung des traumatisch-hämorrhagischen Schocks	1
1.2	Definition des traumatisch-hämorrhagischen Schocks aus heutiger Sicht unter Berücksichtigung der multifaktoriellen Genese; auslösende Faktoren	2
1.3	Entdeckung der Proteinasen und Vorkommen	3
2	<u>PROTEINASEN</u>	7
2.1	Klassifizierung und Bedeutung der Proteinasen	7
2.2	Einteilung, Struktur, Biochemie, funktionelle Gruppen	9
2.3	Exopeptidasen	10
2.4	Endopeptidasen	10
2.4.1	Carboxylproteinasen Cathepsin D (EN 3.4.23.5)	11
2.4.2	Sulphydrylproteinasen Cathepsin B1 (EN 3.4.22.1)	12
2.4.3	Metalloproteinasen Collagenase	13
2.4.4	Proteinasen mit unbekanntem katalytischen Mechanismus (EN 3.4.99)	14
2.4.5	Serinproteinasen Elastase / Cathepsin G (EN 3.4.21-)	14
2.5	Freisetzung der Proteinasen aus polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten	19

2.5.1	Zelltod	19
2.5.2	Perforation von innen	20
2.5.3	Freisetzung bei Phagocytose	20
2.5.4	Freisetzung durch 'umgekehrte Endocytose' / 'frustrane Phagocytose'	21
2.6	Proteinasen bei verschiedenen Erkrankungen	21
2.6.1	Infektionen	21
2.6.2	Malignität und Invasion	22
2.6.3	Entzündungen und damit verbundene Gewebsläsionen	23
2.6.4	Demyelinisierung	25
2.6.5	Amyloidose	25
2.6.6	Muskeldystrophie	26
2.6.7	Lungenemphysem	26
2.6.8	Posttraumatische pulmonale Insuffizienz (PTPI; ARDS)	27
2.7	Proteinasen bei verschiedenen Schockformen	28
3	<u>PROTEINASENHIBITOREN</u>	30
3.1	Synthetische Inhibitoren	31
3.1.1	Salze	32

3.2	Natürliche Inhibitoren	33
3.2,1	Pflanzliche Inhibitoren	33
3.2.2	Tierische Inhibitoren	34
3.3	Proteinaseninhibitoren im menschlichen Plasma	36
3.3.1	Alpha ₂ -Macroglobulin (alpha ₂ -M)	38
3.3.2	Alpha ₁ -Proteinaseninhibitor (alpha ₁ -PI)	42
3.3.3	Antithrombin III (ATIII)	45
3.3.4	Alpha ₂ -Antiplasmin (alpha ₂ -AP)	45
3.3.5	Alpha ₁ -Antichymotrypsin (alpha ₁ -AC)	46
3.3.6	Cl'-Inhibitor (Cl'Inh)	47
3.3.7	Inter - Alpha - Trypsin Inhibitor (Ialphal)	47
3.3.8	beta ₁ -Anticollagenase (B ₁ -AC)	48
3.3.9	Alpha - Cystein Proteinase Inhibitor (alpha-CPI)	49
3.3.10	Antileukocytenproteinase (ALP)	49
4	<u>DISKUSSION</u>	51
4.1	Schockbedingte pathologische Veränderungen in der Lunge	52
4.2	Proteinasen beim traumatisch-hämorrhagischen Schock	54
4.3	Die Rolle der PMN-Proteinasen Elastase und Cathepsin G	56

4.4	Tiermodelle	58
4.5	Klinische Studien	61
4.6	Bedeutung der PMN-Proteinasen und ihrer Inhibitoren	66
5	<u>Zusammenfassung</u>	70

6 LITERATURVERZEICHNIS

Dieses Verzeichnis verwendet eine neue, didaktisch verbesserte Systematik. Die ersten vier Buchstaben des Autorennamens und die letzten beiden Ziffern des Erscheinungsjahres identifizieren das Zitat im Text und im Literaturverzeichnis. Mehrere Veröffentlichungen desselben Autors im selben Jahr unterscheiden sich durch nachgestellte Kleinbuchstaben (a,b,c...).

7 DANKSAGUNG

8 LEBENS LAUF

1.1 Die zunehmende Bedeutung des traumatisch hämorrhagischen Schocks

Der Zustand des traumatisch-hämorrhagischen Schocks mit kaltem Schweiß, Blässe und fehlendem spürbaren Pulsschlag wurde bereits von Ambroise PARE (1510-1590) beschrieben.

LE DRAN veröffentlichte im Jahre 1741 eine anschauliche Beschreibung des klinischen Erscheinungsbildes beim traumatisch-hämorrhagischen Schocks. Er führte die kalten Extremitäten am Schock verstorbener Soldaten auf die veränderte Kapillarcirkulation zurück. (LEDR41)

In den letzten zwanzig Jahren wurden zunehmend moderne Rettungsmittel entwickelt und eingeführt (Notarztwagen, Rettungshubschrauber, zentrale Leitstellen). Die Zeitspanne von der Unfallmeldung bis zum Eintreffen der Helfer und dem Beginn suffizienter Rettungsmaßnahmen konnte deshalb ständig verkürzt werden.

Zugleich hat sich die Zahl der schweren Mehrfachverletzungen durch die zunehmenden Rasanztraumen, kriegерischen Einwirkungen und steigende Zahl von Gewaltdelikten stark erhöht.

Die Struktur des zur Notaufnahme gelangenden Patientengutes wandelte sich grundlegend. Der aufnehmende Arzt sieht sich heute mit erheblich schwereren Krankheitsbildern konfrontiert als zu früheren Zeiten, wo vergleichbare Schweregrade bei

Polytraumatisierten in der Regel nicht mehr einer ärztlichen Versorgung zugeführt werden konnten, da die Opfer bereits am Unfallort oder auf dem Transport zur Klinik verstarben.

Immer mehr Patienten gelangen so im Stadium des drohenden und auch manifesten traumatisch-hämorrhagischen Schocks zur Aufnahme (HARD68).

Trotz des Einsatzes modernster medizinischer Möglichkeiten - verbesserte Rettungsmittel, frühzeitige Medikation, Intubation, Intensivstationen u.a. - und intensiver Forschung handelt es sich beim traumatisch-hämorrhagischen Schock noch immer um einen unmittelbar lebensbedrohenden Zustand, welcher auch im Falle des Überlebens zu schweren Schäden im gesamten Organismus führen kann. Dieses Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch tiefgreifende, bis zum endgültigen Versagen reichende pathologische Veränderungen in den Systemen des menschlichen Organismus (BENZ82). Der Patient verstirbt dann im Mehrorganversagen ('MOV').

1.2 Definition des traumatisch-hämorrhagischen Schocks aus heutiger Sicht unter Berücksichtigung der multifaktoriellen Genese; auslösende Faktoren

Die Definition des traumatisch hämorrhagischen Schocks hat sich nach den Ergebnissen der Forschung häufig geändert, das komplexe Krankheitsbild läßt sich nicht länger allein durch das Mißver-

hältnis zwischen vorhandener Blutmenge und Gefäßkapazität erklären.

Der Schock wird heute als ein progredienter pathologischer Prozeß definiert, dem eine dekompensierte hämodynamische Dysregulation unterschiedlicher Genese zugrunde liegt. Darunter versteht man ein pathologisch gestörtes Verhältnis zwischen Herzzeitvolumen und aktuellem peripheren Bedarf sämtlicher Teilkreisläufe, welches auch die Mikrocirkulation beeinflußt, zur Stase im Kapillarbett führt und die metabolischen Veränderungen einleitet, die dann ihrerseits den weiteren Verlauf des traumatisch-hämorrhagischen Schocks entscheiden und unabhängig von der Pathogenese einen eigengesetzlichen Ablauf haben. (AHNE62, BENZ82, BUCH62, GRUB68, HARD68, MESS83; ORKI65).

Zahlreiche Faktoren können einen Schock auslösen:

1. Volumenmangelschock, eventuell mit Freisetzen zusätzlich schädigender Enzyme bei ausgedehnten Weichteilverletzungen: traumatischer Schock;
2. kardiogener Schock mit Verminderung der kardialen Auswurfleistung bei Infarkt oder Arrhythmien;
3. septischer Schock bei Bakterie- oder Toxinämie;
4. anaphylaktischer Schock bei Antigen-Antikörperreaktionen;

5. neurogener Schock bei Ganglienblockade, spinalem Block, Vasomotorenversagen;

6. endokriner Schock.

Meist wird der Schock durch eine multifaktorielle Genese verursacht.

Besonders der traumatisch-hämorrhagische Schock hat fließende Übergänge zu den anderen Schockformen, speziell zum neurogenen Schock.

1.3 Entdeckung der Proteinasen und Vorkommen

Gegen Ende des 19. Jahrhunderts entdeckte man bereits die ersten Hinweise auf proteolytische Aktivitäten im menschlichen Organismus. KÜHNE beschrieb 1878 erstmals elastolytische Aktivitäten im Pankreassekret (KÜHN78). Erste Vermutungen, daß proteolytische Aktivitäten im Blut des Menschen bei Gewebeschädigungen eine Rolle spielen und daß diese Aktivitäten durch Stoffe ausgelöst werden, die aus "undichten" Leukocyten stammen, äußerte METCHNIKOFF im Jahre 1887 (METC87). BAYLISS und STARLING beschrieben 1902 die Umwandlung der inaktiven Pankreasproenzyme in deren aktive Form (BAYL02).

Diese ersten Hinweise konnte OPIE 1905 mit seinen Untersuchungen über die proteolytische Wirkung entzündlicher Exsudate und deren Herkunft aus polymorphkernigen Granulocyten 1922 erhärten

(OPIE05,22), ebenso wie die Arbeit von MENKIN 1938 (MENK38) auf die Leukozyten als Ursprungsort dieser Stoffe hinwies.

Dennoch sollten in den folgenden Jahrzehnten sich alle Forschungen nahezu ausschließlich auf die proteolytischen Enzyme Trypsin und Chymotrypsin bei den Krankheitsbildern der akuten und chronischen Pankreatitis konzentrieren. Obwohl die Pankreasenzyme intensiv erforscht wurden, gelang erst BALO und BANGA 1949 die Entdeckung einer völlig neuen Proteinase im Pankreassekret: Die Pankreaselastase (BANG49).

Weitere Forschungen zeigten, daß eine ganze Reihe von Stoffen mit proteolytischen Eigenschaften existieren und sich jene ubiquitär in jedwedem Organismus finden lassen: KOKAS gelang der Nachweis bei Hunden 1951, LEWIS bei Rindern, Hühnern und Katzen 1956, MARAMA bei Pferden 1960 (KOKA51; LEWI56; MARA60). Die Arbeiten in den folgenden Jahren wiesen bei Meerschweinchen (MOON60), Fischen (LAMY61; CAEN74) und Mäusen (LIEV74) proteolytische Enzyme nach.

In Mikroorganismen fanden sich ebenfalls derartige Enzyme, so bereits 1890 durch EWALD beschrieben; 1960 isolierten MANDL und COHEN Elastase aus Flavobakterien, im selben Jahr berichteten SBARRA et al. über Elastin lysierende Actinomyceten (EWAL90; MAND60; SBAR60). Elastasen konnten andere Forscher in vielen weiteren Mikroorganismen nachweisen, zB. in *Pseudomonas aeruginosa* (SUSS69), *Streptomyces griseus* (GERT71), *Flavobacterium immotum* (OZAK75).

Proteolytische Aktivität zeigte sich genauso bei Untersuchungen im Pflanzenreich: Die Proteinasen Papain, Ficin und Bromelin wurden von MIYADA, THOMAS und ROBERT beschrieben (MIYA56; THOM60; ROBE69).

Alle diese Untersuchungen ergaben, daß es sich bei den Proteinase-
n um eine heterogene Gruppe von Enzymen handelt. Aber auch
Nomenklatur und die verwendeten Klassifizierungen waren keines-
wegs einheitlich.

Proteinase steuern die Proteinsynthese und -degradation. Man
findet sie in allen Systemen des Organismus. Sie stehen im
Gleichgewicht mit ihren spezifischen und unspezifischen Inhibi-
toren. Besondere Umstände wie Krankheiten, Autoimmunreaktionen
oder Unfälle erhöhen die Menge der zirkulierenden Proteinase-
n bzw. verringern die der Inhibitoren. Die pathologischen Änderun-
gen im traumatisch-hämorrhagischen Schock könnten dadurch ver-
ursacht werden. Im Schockzustand beobachtet man zahlreiche Organ-
- und Strukturläsionen, die man auf Proteinasewirkungen
zurückführt.

PROTEINASEN

Klassifizierung und Bedeutung der Proteinase

Einen erfolgversprechenden Versuch, die unübersichtliche Vielfalt zu ordnen, unternahm HARTLEY 1960, indem er die Proteinase nicht länger nach ihrer Inhibitorbindung beurteilte - was je nach verwendetem Inhibitor gerade zu dieser Unübersehbarkeit und fehlender Einordnung geführt hatte - sondern nach dem enzymatischen Reaktionsmechanismus fünf verschiedene Klassen definierte (HART60):

1. Serinproteinase
2. Metalloendopeptidasen
3. Sulfhydrylpeptidasen
4. Saure Proteinase
5. Metalloexopeptidasen.

Diese Einteilung erwies sich bis heute als sinnvolle und brauchbare Arbeitsgrundlage.

Den verschiedenen Proteinase werden in allen biologischen Systemen entscheidende Funktionen zugeschrieben und bei vielen Erkrankungen vermutete man Zusammenhänge. Es gibt eine fast unüberschaubare Anzahl von Veröffentlichungen über die vermuteten und nachgewiesenen Funktionen der Proteinase im Stoffwechsel (s.Kap.2).

Die „Hemmung proteolytischer Enzyme als Therapieschema wurde erstmals von FREY 1953 in die Klinik zur Behandlung der akuten Pankreatitis eingeführt (FREY53), ausgehend von der Annahme, der "Selbstandauung" des Pankreas liege eine überschießende proteolytische Aktivität zugrunde.

Acht Jahre später veröffentlichte SHERRY eine Zusammenfassung des damaligen Wissens über Proteinasen bei Schockereignissen. Seit 1915 ist bekannt, daß in Blut und Urin beim Schock Proteinabbauprodukte gesteigert vorkommen. Unspezifische proteolytische Aktivitätsteigerungen wurden ebenso gemessen wie auch bei Trypsin, Chymotrypsin und Kallikrein. In seinen Veröffentlichungen im Jahr 1961 wies auch BERGENTZ auf einen Zusammenhang zwischen den bekannten Veränderungen im hämatologischen System - Plättchenfaktoren, Fibrinogen, Faktor V, Blutungszeit und weitere allgemeine Gerinnungsparameter - und aktivierten Proteinasen im Blut der vom Schock Betroffenen hin. Die einzelnen Proteinasen und deren Bedeutungen konnten nicht aufgeklärt werden (SHER61; BERG61a,61b).

Andere Arbeiten beschrieben die Erzeugung eines Lungenemphysems nach Instillation von pflanzlichen Proteinasen. Dabei beobachtete man ähnliche Frühschaden, wie sie auch beim akuten Lungenversagen (PTPI; ARDS) während eines Schocks auftreten (GRUS65; GOLD68).

Weitere Autoren beschrieben eine Erhöhung der Plasmaenzymspiegel bei den verschiedenen Schockarten und vermuteten, die Proteinasen seien die Auslöser der Schockkrankheit. Zusammenfassende

Überblicke geben DUMONT, REICH und BARRETT in ihren Veröffentlichungen (DUM064; REIC65; BARR80b).

Seitdem beschäftigten sich viele Arbeiten mit der pathogenetischen Bedeutung der Proteinase bei traumatisch-hämorrhagischen Schock und den Möglichkeiten einer Therapie mit Proteinaseinhibitoren (s. Kap. 2.6; 4.6).

2.2 Einteilung, Struktur, Biochemie, funktionelle Gruppen,

Proteinase sind Enzyme, die Proteinkörper an bestimmten Stellen angreifen und in Fragmente spalten können, ubiquitär in allen bekannten biologischen Systemen vorkommen und denen wichtige Funktionen zugeschrieben werden.

Bis heute gelang es nicht, eine allen Ansprüchen genügende Einteilung der Proteinase aufzustellen. Weitverbreitet sind die Nomenklaturen nach HARTLEY (HART60) und BARRETT (BARR75). Dabei unterscheidet man Exo- und Endopeptidasen, wobei die letzteren noch weiter in Anlehnung an HARTLEY in fünf Gruppen eingeteilt werden. Unter Exopeptidasen versteht man Enzyme, welche die Polypeptidketten nur nahe den Endungen trennen können. Diese Gruppe wird weiter halbsystematisch benannt nach der Spezifität der jeweiligen Enzyme, e.g. Cathepsin A, B₂, C.

Die Einteilung der Endopeptidasen gestaltet sich viel schwieriger und gelang bis jetzt nur teilweise. Als brauchbare Klassifikation erwies sich die o.a. Einteilung nach HARTLEY in der Modifikation nach BARRETT 1975. Die Subgruppen werden hier als Carboxyl-,

Thiol-, Serin- und Metalloproteinasen bezeichnet, und eine fünfte Gruppe wird für die noch nicht klassifizierten Proteinase verwendet.

2.3 Exopeptidasen

Die Exopeptidasen können je nach ihrem Angriffspunkt an der Proteinkette in fünf Untergruppen eingeteilt werden: Amino-, Carboxy-, Dipeptidasen, Dipeptidylpeptid- und Peptidyldipeptidhydrolasen. Ein großes Problem bei der Erforschung dieser Gruppe ist der schwierige Nachweis teilweise abgebauter Proteine in Zellen. Es scheint so zu sein, daß die Endopeptidasen den Weg für die Exopeptidasen freimachen, welche dann sehr rasch den weiteren Abbau durchführen (BARR75).

2.4 Endopeptidasen

Im Rahmen dieser Arbeit sollen überwiegend die proteolytischen Enzyme der polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten (PMN) des Menschen behandelt werden. Wie bereits erwähnt, wurde seit 1887 (METC87) vermutet, daß in diesen Zellen proteolytische Aktivitäten lokalisiert sind und ggf. freigesetzt werden können. Der Nachweis, daß pathologische Reaktionen tatsächlich auf dem Weg der Freisetzung solcher Enzyme aus Leukocyten entstehen, gelang erstmals bei der Vaskulitis beim ARTHUS-Phänomen (STET51; HUMPS5; COCH59; PARI69; DESH72). Dabei wurden mit Stickstofflost oder heterologem Antilymphocytenserum die Leukocyten inaktiviert,

woraufhin beim Auslösen des ARTHUS-Phänomens keinerlei vaskuläre Schäden mehr feststellbar waren. Viele weitere Untersuchungen bestätigten die Lokalisierung der proteolytischen Aktivität in den polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten; eine umfassende Zusammenstellung dieser Arbeiten findet man bei SMOLEN (SMOL78). Die physiologische Funktion dieser Proteinasen besteht im Abbau endocytierter Partikel, wobei die in den Lysosomen gespeicherten Enzyme in das Phagosom freigesetzt werden - 'Degranulation' (BAIN73) - und das Partikel abbauen (HIRS60; COHN60). Unter normalen Bedingungen verbleiben die Enzyme in den Zellen und gelangen nicht in das umgebende Gewebe oder in die Blutbahn (SMOL78). Die nachfolgend aufgeführten vier Gruppen von Endopeptidasen sind nicht die einzigen der in den Zellen enthaltenen Enzyme, sie scheinen jedoch die für die Schädigung extracellärer Strukturen wichtigsten Proteinasen zu sein (SMOL78).

Die nach den Namen der Enzyme angegebenen Bezeichnungen (E....) stellen die biochemische Klassifizierung dar und wurden aus "Enzyme Nomenclature" entnommen (FLOR73). Dabei handelt es sich um eine international gebräuchliche Einteilungsweise, die in Haupt- (Buchstaben) und Subgruppen (Zahlen) untergliedert ist.

2.4.1 Carboxylproteinasen

Cathepsin D (EN 3.4.23.5)

Das Cathepsin D wurde zuerst durch WILLSTÄTTER und BAMANN 1928 entdeckt und beschrieben (WILL28). Es läßt sich in allen Gewebeproben nachweisen und die Untersuchungen von DINGLE, POOLE und

BARRETT 1972 mit Verwendung von Antiseren zeigten die Lokalisation in Lysosomen ähnlichen Organellen in zahlreichen verschiedenen Zellen (POOL72; DING71; BARR75; WEIS72; MICH70). 1977 gelang die Reindarstellung aus polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten (ISH177). Man verwendet normalerweise Proteine als Substrat, da gegen niedermolekulare Stoffe nur geringe proteolytische Aktivität gemessen werden kann. Das Aktivitätsmaximum liegt je nach Substrat zwischen pH 3 - 5. In pH-Bereichen über pH 7 scheint es vollständig inaktiviert vorzuliegen (BARR75). Bei der Reindarstellung fand man eine Trennung in drei Hauptformen mit geringfügig verschiedenen isoelektrischen Punkten, jedoch immunologischer Identität (DING71). Das Molekulargewicht liegt bei etwa 44600 Dalton (D) (CAST68). In Kaninchenalveolar-Makrophagen baut es einen Großteil des endozytierten Hämoglobins ab (DING73). In Gegenwart von Antikörpern bilden diese extracelluläre Präcipitate um die Zellen herum, welche Cathepsin D sezernieren (POOL73). Die biologische Bedeutung des Cathepsin D im menschlichen Organismus bleibt bis heute ungeklärt (BARR75; SMOL78).

2.4.2 Sulphydrylproteinasen

Cathepsin B1 (EN 3.4.22.1)

Zu dieser Gruppe gehören die pflanzlichen Proteinasen Papain, Ficin, Bromelain und einige Bakterienenzyme. Die einzige gut erforschte Proteinase höherer Lebewesen ist das Cathepsin B1, welches aus den Lysosomen der menschlichen Leber gewonnen wurde (BARR75). Das zuerst gefundene Cathepsin B besteht aus zwei verschiedenen Enzymen, dem Cathepsin B1 und dem B2 (OTT071;

BARR71). Die Aktivitätsmaxima liegen wie beim Cathepsin D im sauren Bereich, das Molekulargewicht bei 25000 D. Gemeinsamkeiten zwischen beiden Enzymen zeigen sich auch im Vorkommen in mehreren verschiedenen Formen, welche sich nur im isoelektrischen Punkt gering unterscheiden. Es besteht noch keine Klarheit darüber, ob diese verschiedenen Formen tatsächlich bestehen oder Artefakte bei der Darstellung sind. Dem Cathepsin B1 steht im menschlichen Serum ein starker Inhibitor, das α_2 -Makroglobulin gegenüber (STAR73). Die biologischen Funktionen konnten noch nicht eindeutig geklärt werden (SMOL78).

2.4.3 Metalloproteinasen

Collagenase

Die Collagenase stellt die am besten erforschte Proteinase dieser Gruppe dar. Da es sehr viele Veröffentlichungen über die Collagenasen gibt, wird auf die Zusammenfassungen von SEIFTER/-HARPER und LAZARUS verwiesen, die einen guten Überblick über die weiterführende Literatur vermitteln (SEIF70; LAZA73). Das Enzym wurde in den azurophilen Granula menschlicher neutrophiler Leukocyten gefunden (LAZA68; LAZA72; MURP77). Sein Molekulargewicht liegt zwischen 70000 - 76000 D (OLSS72; OHLS75; LAZA72). Die Proteinase scheint bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises eine wichtige Rolle zu spielen (HARR72; BARR75). α_2 -Makroglobulin und α_1 -Proteinasen Inhibitor (früher α_1 -Antitrypsin) hemmen die proteolytischen Wirkungen dieser Proteinase (OHLS75).

2.4.4 Proteinasen mit unbekanntem katalytischen Mechanismus (EN 3.4.99)

In diese Gruppe reiht man diejenigen Proteinase ein, deren Wirkungsmechanismus noch nicht aufgeklärt werden konnte und deren Lokalisation unbekannt ist. Als Beispiel sei das Cathepsin F erwähnt (BARR75).

2.4.5 Serinproteinase Cathepsin G / Elastase (EN 3.4.21-)

Die beiden Endopeptidasen Elastase (EC 3.4.21.11) und Cathepsin G (EC 3.4.21.20) bilden die größte Masse der in den polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten des Menschen vorhandenen proteolytischen Enzyme (BRET74; TRAV80; BARR81; DEWA75). Bis heute gibt es keine Hinweise, daß die Leukocytenelastase in irgendwelchen anderen menschlichen Zellen vorkommt. Die Elastase der Macrophagen ist eine Metalloproteinase mit ganz anderen Eigenschaften (BARR81). Die Elastase wurde zuerst von JANOFF und SCHERER 1968 in den polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten (PMN) als Träger elastinolytischer Eigenschaften erkannt (JAN068a). Im gleichen Jahr entdeckte LAZARUS die kollagenolytische Wirkung dieses Enzymes (LAZA68a). Damit begann die systematische Erforschung der Leukocytenenzyme. Wegen ihres Wirkungsmechanismus wurden sie mit vielen pathologischen Zuständen in Verbindung gebracht; weiterführende Literaturhinweise findet man bei STARKEY, HAVEMANN, BIETH und BARRETT (STAR77c, HAVE78, BIET78, BARR80). Ein Überblick über die mögliche Rolle der

Proteinasen bei den verschiedenen Krankheitsbildern folgt in Kapitel 2.5 (S. 17 ff) .

Die intensive Suche nach den Leukocytenenzymen und ihren Lokalisationen führte - neben dem Nachweis verschiedener saurer Hydrolasen - zur Entdeckung von drei neutralen Proteinase (Elastase, Cathepsin G, Proteinase 3) sowie einer Collagenase in den azurophilen Granula (MURP77; OHLS78; OHLS77; DEWA75; GERB/4; RIND74; SCHM74a).

Die Reindarstellung der Elastase aus den azurophilen Granula normaler Leukocyten gelang JANOFF 1973 (JANO73); andere Autoren konnten diese Lokalisation bestätigen (OHLS75; DEWA75). Ein Jahr später berichtete OHLSSON über die Darstellung aus Leukocyten leukämischer (CML-) Patienten (OHLS74). Die Leukocytenelastase ist ein kationisches Glycoprotein mit einem MW von 34000 D (OHLS75; DEWA75) oder 29000 - 31000 D (TRAV80). Das Enzym besteht aus drei Isoformen, die sich aus geringen Strukturunterschieden im Kohlenhydratteil, ca 25 %, und Arginingehalt, ca 11%, der Moleküle ergeben und sowohl in der Immundiffusion wie in der zweidimensionalen Immunelektrophorese identisch reagieren mit geringer Substratspezifität (TRAV80). Eine Proelastase ist nicht bekannt. Das Aktivitätsmaximum wird bei neutralen bis leicht alkalischen pH-Werten zwischen 7.6 - 8.6 erreicht (OHLS/8; BARR81).

Die Polypeptidkette der Elastase enthält 240 Aminosäuren, deren räumliche Konformation durch vier Disulfidbrücken stabil gehalten wird. Die Aminosäuresequenz des Moleküls ist über weite Strecken homolog der des Trypsins, die PMN-Elastase besitzt jedoch eine

andere Spaltspezifität. Dies ist bedingt durch die unterschiedliche räumliche Struktur des aktiven Zentrums. Die Elastase spaltet eine große Zahl von Peptidbindungen und bevorzugt dabei aliphatische Seitenketten in p_1 -Position, welche in die 'Aktivitätstasche' des aktiven Zentrums direkt eintauchen. Das Enzym wirkt dabei relativ unspezifisch auf zahlreiche auch hochmolekulare native Eiweißmoleküle.

Wenn Elastase aus den polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten freigesetzt wird, greift sie viele Substrate an, zB. Elastin aus Lunge und Sehnen, Basalmembranen, Kollagen, Fibrinogen und Knorpelgewebe (JANO75; TRAV80; SMOL78; BARR81).

Die Bedeutung der PMN-Elastase bei der Blutgerinnung und Fibrinolyse ist noch nicht endgültig aufgeklärt. Das Enzym kann lokal das α_2 -Antiplasmin in die inaktive Form überführen (GRAM84), es soll auf direktem Weg Fibrinogenfragmente erzeugen - selbst im α_2 -M-Elastase Komplex - ((STER83), es vermag Faktor IX zu spalten und zu inaktivieren (TAKA83). PLOW vermutet, daß diese Funktionen normalerweise gut kontrolliert werden, daß jedoch unter pathologischen Bedingungen die PMN-Elastase in die Blutgerinnung eingreift (PLOW83).

Das Plasma-Kallikrein soll die Freisetzung der Elastase aus den PMN-Leukocyten regulieren und sie soll proportional zur Kallikreinkonzentration ansteigen (WACH83).

Die Elastase verursacht in vivo vaskuläre Läsionen nach Injektion (JANO68b) und kann in vitro die arterielle Tunica elastica angreifen (SMOL78; JANO78).

Die Menge der in den neutrophilen Granulocyten enthaltenen Elastase konnte mit der radialen Immundiffusion nach Cethyltrimethylammoniumbromid-Extraktion (CTAB) zu $27.3 \pm 6.6 \times 10^{-9}$ kg pro 10^7 Zellen bestimmt werden (OHL577). Täglich setzt das Knochenmark etwa 1.5×10^9 neutrophile Granulocyten frei (CRAD72), damit werden rund 300 mg Elastase (in den Zellorganellen verbleibend) in die Zirkulation gebracht. OHLSSON und OLSSON errechneten aus der mit RIA gemessenen Serumkonzentration der Elastase von 135 ng/ml und der Eliminationshalbwertszeit des E- α_1 -PI Komplexes eine pro Tag freigesetzte Menge von ca. 10 mg Elastase, was etwa 3% der gesamten produzierten Menge entspricht (OHL578).

Der α_1 -Proteinaseinhibitor hemmt die PMN-Elastase, indem er an die Stelle des regulären Substrats tritt, zu etwa 90 %, das α_2 -Macroglobulin zu etwa 10 %. Die Reaktion des Ersteren mit PMN-Elastase erfolgt zehnmal so schnell wie diejenige mit irgendeiner anderen bekannten Proteinase. Erst wenn die Konzentration des aktiven Inhibitors drastisch sinkt, übernimmt das α_2 -M hemmende Funktionen.

Der Inter- α -Trypsin Inhibitor kann ebenfalls die PMN-Elastase hemmen, ihm kommt aber wohl nur untergeordnete Bedeutung zu (JOCH83b).

Cathepsin G ist dem Chymotrypsin ähnlich mit einem MW von 23000 - 25000 D (TRAV80) bzw. 32000 D (SMOL78) mit deutlichen immunologischen Unterschieden zur Elastase (TRAV80; SMOL78). Das Aktivitätsoptimum liegt bei pH7.5 (SCHM78). Es wird vom α_1 -PI gehemmt. Das Enzym kann Knorpelproteoglykane und Kollagen angrei-

fen (JOHN73), jedoch sind die Funktionen im menschlichen Organismus noch weitgehend unklar.

Es ist bekannt, daß Cathepsin G Angiotensin I in Angiotensin II umwandeln kann und auch Angiotensin II direkt von Angiotensinogen im Plasma abspaltet. Das Granulocyten-Angiotensin-System kann daher Angiotensin II ohne Renin oder Converting Enzym erzeugen(WINT84).

Cathepsin G wird im Plasma hauptsächlich durch α_1 -Antichymotrypsin gehemmt (VIRC84).

Die Trennung der beiden Enzyme PMN-Elastase und Cathepsin G ist gut beschrieben durch TRAVIS (TRAV80).

Cathepsin G verstärkt signifikant die elastolytische Wirkung der PMN-Elastase! Diese Steigerung läßt sich besonders deutlich beim menschlichen Lungenelastin nachweisen. Cathepsin G ist relativ unspezifisch und kann daher zahlreiche Peptidbindungen des Elastins angreifen und dadurch die Wirkung der Elastase steigern (BOUD84).

Stimulationsfaktoren verschiedener Proteinasen auf PMN-Elastase

Cathepsin G	4,9
Pankreas Elastase 2	3.7
bovines Pankreas-alpha-Chymotrypsin	2.4

(BOUD84).

2.5 Freisetzung der Proteinase aus polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten

Es sind vier verschiedene Möglichkeiten der Freisetzung proteolytischer Enzyme aus polymorphkernigen neutrophilen Granulocyten beschrieben worden:

2.5.1 Zelltod

Wenn eine Zelle stirbt oder zerstört wird, brechen alle Zellfunktionen zusammen, die Membranen können ihre Aufgaben nicht mehr erfüllen und werden 'undicht'. Sämtliche Bestandteile des Zellinhalts gelangen in das umgebende Gewebe und die Blutbahn. Wenn dabei die proteolytischen Enzyme aus dem Zellplasma und den Zellorganellen ihre Wirkung beibehalten, könnten durch Proteolyse Chemotaxis, Prostaglandin-, Thromboxanfreisetzung und weitere Mechanismen ausgelöst werden und an beliebiger Stelle im Organismus Schädigungen an den Organstrukturen hervorrufen. In vitro Untersuchungen ergaben, daß elastische Fasern in Lungen, Sehnen, Basalmembranen und kollagene Strukturen von den PMN-Proteinase angegriffen werden (SORK70; WARD73; ZIGM73; ALTM73; KAPL73a,b; MCCU46; BALD33; SBAR59; ALLI71; REAV73; KUEH77; GREE76; FERR73; GOET77; SAMU76).

2.5.2 Perforation von innen

In die Zelle gelangte kristalline Substanzen wie Na-Urate und -Silikate zerstören im Inneren des Vakuolensystems lysosomale Membranen. Dadurch können die in den Organellen enthaltenen Proteinase in das Cytoplasma gelangen und dort über Aktivierung weiterer, noch nicht genau erforschter Prozesse zum Zelltod führen. Dabei werden wie in Abschnitt 2.5.1 beschrieben Enzyme in den interzellulären Raum hinein freigesetzt (WEIS72). Die Bedeutung dieses Prozesses ist unbekannt. In keiner der vielen überprüften Literaturstellen wurde die 'Perforation von innen' im Zusammenhang mit dem traumatischen Schock erwähnt.

2.5.3 Freisetzung bei Phagocytose (Regurgitation during feeding)

Bei diesem und dem in Abschnitt 2.4.4 beschriebenen Mechanismen werden Proteinase ohne irreversible Verletzung der Zellmembranen freigesetzt.

Unter besonderen Bedingungen, wie sie beim Abbau phagocytierte unlöslicher Immunkomplexe - zB. aus der Synovialflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis - auftreten können, wird ein Phagosom gebildet, welches Lysosomen berührt. So können bei unvollständiger Fusion der Membranen oder persistierenden endocytotischen Kanälen Proteinase aus der Zelle hinaus gelangen, ohne sie dabei zu schädigen (ZUR173a,b). OHLSSON und OLSSON wiesen in Phagocytoseversuchen die Freisetzung von etwa einem Viertel des gesamten Elastasegehaltes nach (OHL577): 'Regurgitation during feeding' (OHL577a).

2.5.4 Freisetzung durch 'umgekehrte Endocytose' / 'frustrane Phagocytose'

Bei diesem Vorgang wird ursprünglich in den Lysosomen gespeichertes Material in die Umgebung freigesetzt. Dies kann geschehen, wenn Zellen sich an von Immunglobulinkomplexen besetzten Oberflächen, Membranen o.ä. anlagern. Der Kontakt zwischen Zelle, Immunkomplex o.ä. und Plasmamembran bewirkt jetzt die Ausschüttung lysosomaler Proteinase (HENS71a,b,c; HENS73; WEIS74). Bei zahlreichen Erkrankungen mit Immunkomplexablagerungen an Membranen sowie beim 'Leukocytensticking' in den Lungenkapillaren als Schockfolge und den folgenden lokalen Schäden mag diesem Mechanismus vielleicht entscheidende Bedeutung zukommen (SMOL78; DUSW82; s.a.Kap.4).

2.6 Proteinase bei verschiedenen Erkrankungen

2.6.1 Infektionen

Bei den Untersuchungen über das Bakterium 'Schistosoma mansoni' gelang der Gruppe von DRESDEN und ASCH 1972 der Nachweis, daß der Mikroorganismus mit Hilfe chymotrypsinähnlicher Proteinase die menschliche Haut durchdringt und die Infektion bewirkt (DRES72). Die Erforschungen der Malaria zeigten, daß die Plasmodien während ihres Aufenthaltes im Erythrocyten Hämoglobin mittels einer sauren Proteinase verstoffwechseln (LEVY74,75). Einige Stämme der Pseudomonas- und Staphylokokkengruppe verfügen über potente proteolytische Enzyme, die zu schweren Schädigungen von Lunge,

Gefäßwänden, Haut und Auge führen können (WRET77; HART77). Infektionen mit Streptokokkus sanguis, Neisseria gonorrhoea und N. meningitidis werden durch IgA-Proteinasen erleichtert, welche IgA₁ inaktivieren können und damit die Immunantwort des Organismus schwächen (PLAU75; BLAK78). Aber auch bei viralen Infektionen nehmen die Proteinase eine Schlüsselrolle ein. Sie überführen den 'Vorläufer' in den aktiven Virus (KORA75; SHAP76; DITT78).

2.6.2 Malignität und Invasion

Seit etwa zehn Jahren ist bekannt, daß Tumorzellen große Mengen Plasminogenaktivator freisetzen. Dieses Enzym soll durch virale Transformation normaler Zellen entstehen (RIFK74). Zahllose Untersuchungen beschäftigen sich seitdem mit der Frage der Tumorinduktion und einer möglichen Inhibitorthherapie (SCHN75). Viele Autoren schreiben den Proteinase eine entscheidende Rolle bei der Tumordinvasion ins umgebende Gewebe, der Metastasierung und der Aszitesbildung zu, eindeutige Ergebnisse liegen bis heute leider nicht vor (SYLV74; MCCR75; GREE78; ESUM78).

Untersuchungen von HILLER und JOCHUM bei den Leukämien zeigten, daß die akuten myeloischen oder promyeloischen (AML; APL) sowie die chronisch myeloischen Formen (CML) die PMN-Elastase-alpha₁-PI Komplexkonzentrationen im Plasma auf das 2 - 20-fache des Ausgangswertes erhöht (HILL84). KRAMPS verwendet die Elastase als Marker für die Unterscheidung verschiedener Zelllinien bei den Leukämien (KRAM84).

2.6.3 Entzündungen und damit verbundene Gewebsläsionen

Rheumatischer Formenkreis

Die Ursache einer chronischen Entzündung, wie beispielsweise der rheumatischen Arthritis, bleibt bis jetzt unklar. Zahlreiche denkbare Mechanismen mit Beteiligung proteolytischer Enzyme werden diskutiert, da sich zeigte, daß viele verwendete Medikamente gleichzeitig entzündungs- und proteolysehemmende Wirkungen entfalten (BARR80). HAYASHI berichtete über eine wichtige Sulfhydrylproteinase und ihre Inhibition bei der passiven subcutanen ARTHUS-Reaktion (HAYA75). Die vermutete kausale Bedeutung der Proteinase in diesem Rahmen konnte jedoch nicht bewiesen werden.

Gewebeschäden

Hingegen werden von den Forschungsgruppen die Proteinase als entscheidende Ursache der Gewebeerstörung bei Entzündungsreaktionen angesehen (BARR80,81; DING72; POOL74; WOOL77). Die hier bei wirkenden Enzyme sollen aus den azurophilen Granula der polymorphkernigen neutrophilen Leukocyten stammen (BARR78,80,81; STAR77). Es scheint, daß der Abbau kollagener Strukturen überwiegend von Serinproteinase und weniger von den Collagenasen verursacht wird (BROW75; BERM75). Es gibt Hinweise, daß bei kornealen Ulzera das Gleiche gilt (FRAN72; BERM75). Zusammenfassend beschrieben HOPSU-HAVU et al. 1977 die Rolle der Proteinase bei allgemeinen Hauterkrankungen (HOPS77), den Zusammenhang zwischen Pemphigus und Proteinase untersuchten FARB et al. (FARB78).

Glomerulonephritis

Bei den Nierenentzündungen mißt man besonders im Rahmen der Glomerulonephritis den Proteinasen entscheidene Bedeutung zu. Obwohl die Basalmembranen aus sehr stabilem Collagen aufgebaut sind und dieses sich nur bei der Anwendung stark aggressiver Substanzen auflöst, wird es bei der Glomerulonephritis angegriffen. Dabei lagern sich Antikörperkomplexe an, aktivieren und binden Complement, welches mittels Chemotaxis Leukocyten anlockt. Die Leukocyten versuchen nun die angelagerten Immunkomplexe zu phagocytieren, was ihnen nicht gelingt. Die 'frustrane Phagocytose' bewirkt die Degranulation mit konsekutiver Freisetzung der lysosomalen Proteinase und soll dadurch zur Proteolyse der Basalmembranen führen (COCH77; DAV178; s.a.Kap.2.4.4).

Akute Pankreatitis

Auch bei der akuten Pankreatitis bleibt die Ursache letztlich unbekannt. Zahlreiche Hinweise erlauben jedoch die Vermutung, daß proteolytische Enzyme eine wichtige Funktion bei den schweren Gewebeschädigungen spielen. Die Krankheitserscheinungen bis hin zum letalen Schock schreibt man der Aktivierung von Kallikrein, Trypsin, Elastase und den andere Pankreasproteinasen aus den inaktiven Vorläufern im erkrankten Pankreas und ihrer Freisetzung in die Zirkulation und die Peritonealflüssigkeit zu. Wenn nun nicht eine sofortige Hemmung eintritt, so können durch die freigesetzten Proteinase große Mengen Kallidin und andere aktive Peptide entstehen und zu Gefäßläsionen führen. Aus diesen Modellvorstellungen entwickelte man die Therapieversuche mit Aprotinin, dem einzigen zugelassenen Inhibitor (FREY53), obwohl

er Chymotrypsin und Elastase in vitro nur schwach hemmt und seine Wirkung klinisch nicht eindeutig nachzuweisen ist (BARR80).

2.6.4 Demyelinisierung

Krankheiten, die mit Demyelinisierung einhergehen, können auf zwei denkbaren Arten mit proteolytischen Wirkungen verknüpft sein. Chemisch handelt es sich bei Myelin um einen komplexen Stoff, der sowohl Proteine als auch Lipide enthält. Eines dieser Proteine kann in enzymatisch wirkende Fragmente gespalten werden, die allergene Wirkungen entfalten (allergische Enzephalomyelitis bei Kaninchen). Cathepsin D ist eine Proteinase, die solche Fragmente erzeugt (BROS74; BENU75; RUMS77). Die andere Möglichkeit mag im direkten Abbau des 'Myelin Basis Proteins (MBP)' durch Proteinasen liegen. CAMMER et al. beschrieben die Freisetzung einer MBP-abbauenden Proteinase aus stimulierten Makrophagen. Man vermutet, daß die bei der multiplen Sklerose an den Stellen der Demyelinisierung auftretenden Plaques solche Makrophagen enthalten (CAMM78).

2.6.5 Amyloidose

Dies ist eine zwar seltene, aber schwere Erkrankung, bei der in interzellularen Depots zunehmend anormales Protein abgelagert wird. Dadurch wird die normale Gewebefunktion unterbrochen. Die Amyloiddepots bestehen vorwiegend aus zwei Proteinen, AA und AL, welche den leichten Ketten der Immunglobuline bzw. Plasmaproteinen ähneln. Man vermutet, daß in den Lysosomen der mononuklearen Phagocyten aus Vorläufern jene Depotbestandteile entstehen

(SHIR75) oder daß sie aus Serumamyloid an den äußeren Membranen mononuklearer Zellen durch eine Serinproteinase gebildet werden (LAVI78).

2.6.6 Muskeldystrophie

Bei dieser Krankheit besteht ein Ungleichgewicht zwischen Muskelab- und -aufbau mit gesteigertem Abbau. Sowohl Cathepsin B als auch D können Myosin und Actin angreifen (SCHW77). Nach BIRD et al. soll das modifizierte lysosomale System der Skelettmuskeln für den physiologischen und pathologischen Abbau verantwortlich sein (BIRD78). Die Ergebnisse späterer Untersuchungen mit Inhibitoren scheinen diese Ansicht zu stützen (LIBB78; STRA78), wenn auch der sichere Nachweis noch aussteht.

2.6.7 Lungenemphysem

Heute geht man allgemein davon aus, daß Proteinasen bei der Entstehung des Lungenemphysems eine entscheidende Funktion beim Abbau von Elastin und Collagen ausüben. Der Nachweis gelang auch in vitro, jedoch in vivo gibt es nur indirekte Hinweise durch vergleichende Untersuchungen bei Patienten mit angeborenem α_1 -PI Mangel und der Instillation von Proteinasen in die Lungen bei Versuchstieren. Die so entstandenen Schäden wurden mit dem Krankheitsbild bei angeborenem Mangel verglichen. Die aufgetretenen Veränderungen zeigten viele Gemeinsamkeiten: Abbau von Elastin und Kollagen in der Lunge, fibrotische Veränderungen der angegriffenen Organstrukturen (GROS65; GOLD68; JAN077). Durch Rauchen verursachte Inaktivierung des α_1 -PI soll ebenfalls zu

ähnlichen Bildern führen (JAN078; JOHN78). Über die tatsächliche Rolle der Leukocyten beim Lungenemphysem gibt es keine Klarheit. Normalerweise halten sich nur wenige Leukocyten in den Lungenkapillaren auf, verglichen mit den Makrophagenzahlen. Diese produzieren eine Proteinase, wahrscheinlich eine Metalloelastase, über die fast nichts bekannt ist und die eventuell durch den α_1 -PI nicht beeinflusst wird (WERB75). Zusätzlich enthält die Lungenoberflächenflüssigkeit einen weiteren, sehr starken Inhibitor gegen Leukocytenelastase, der in der Lunge selbst entsteht und von α_1 -PI Mangel nicht betroffen wird : Die Antileukocytenproteinase, die in der Mukosa des Respirationstraktes den Hauptinhibitor darstellt (OHLS76; 84).

2.6.8 Posttraumatische pulmonale Insuffizienz (PTPI; ARDS)

Bei der PTPI handelt es sich um ein akutes pulmonales Versagen nach Eintritt eines Traumas. Dabei entwickeln sich schwere pathologische Veränderungen: Das Lungengewebe ist schwer, die Elastizität weitgehend verloren gegangen, subpleurale und parenchymale Blutungen treten auf. Auf der Röntgen- Thoraxübersichtsaufnahme sieht man ein typisches 'Schneegestöber'. Ebenso charakteristisch erscheint das histopathologische Bild: Ein interstitielles Ödem, das sich bald zu einem intraalveolären entwickelt, verdickte intraalveolare Septen, beginnende Bildung hyaliner Membranen, fokale Atelektasen und intraalveoläre Blutungen (s.a.Kap. 4.1). Welche Rolle den Proteinasen bei diesem Geschehen zukommt, konnte trotz der zahlreichen Untersuchungen letztlich nicht geklärt werden. Die Erkenntnisse aus der Emphysemforschung dürfen nur als Hinweise auf eine mögliche Pathogenese der PTPI

verstanden werden, da sich ähnelnde Krankheitsbilder durch völlig verschiedene Ursachen entstehen können.

2.7 Proteinasen bei verschiedenen Schockformen

Seit langem schreibt man den Proteinaseen entscheidende Bedeutung bei der Schockkrankheit zu. Allein fehlt bis heute der eindeutige Nachweis, wie und wo die Proteinaseen die Organschäden bewirken. Beim septischen Schock konnte DUSWALD 1982 mit einem neu entwickelten Enzym-Immuno-Assay bei Patienten im septischen Schock 6 - 10 mal höhere Elastasekonzentrationen im Plasma verglichen mit gesunden Probanden erstmals nachweisen (DUSW82).

Im anaphylaktischen Schock scheinen Proteinaseen eine, wenn auch noch⁹ weitgehend ungeklärte Rolle in der Pathogenese des Krankheitsbildes zu spielen, wie die Untersuchungen von ROCHE e SILVA, WILKENS und BACK andeuteten (ROCH66; BACK66,68; WILK73).

Beim hämorrhagischen Schock beschrieben BITENSKY und JANOFF Anfang der sechziger Jahre Änderungen im Verteilungsmuster der proteolytischen Enzyme (BITE63; JAN062,63). Die Untersuchungen von BURKE zeigten Permeabilitätsstörungen an den Endothelien, die der Freisetzung von Enzymen aus polymorphkernigen Granulocyten zugeschrieben wurden (BURK64). BLOMEL wies auf unspezifische proteolytische Aktivitäten im Frakturhämatom nach Trauma hin, ohne jedoch die Proteinaseen identifizieren zu können (BLÖM66). Im Jahr danach setzte MÜRL bei Schwerverletzten einen Inhibitor (Aprotinin) ein und beobachtete eine geringere Zahl

'Fettembolien' in dieser Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe ohne Hemmstoff (MÜRL67). Diese Ergebnisse waren jedoch mehr zufällig, da der Studie eine andere Fragestellung zugrunde lag. Dennoch führten diese Beobachtungen anschließend zur intensiven Erforschung der Proteinasen bei Schockzuständen. Nahezu alle folgenden Arbeiten untersuchten die Proteinasen nur indirekt durch den Einsatz von Hemmkörpern unter den verschiedensten Gesichtspunkten. Die Ergebnisse sind daher bis heute äußerst widersprüchlich. DEMLING maß die Konzentrationsänderungen der lysosomalen Proteinasen β -Glucuronidase und Aryl-Sulfatase A in septischen und hämorrhagischen Schockzuständen. Dabei zeigte sich, daß die proteolytischen Enzyme nicht einheitlich, sondern vielmehr je nach Schockursache in unterschiedlichen Konzentrationen ausgeschüttet werden (DEML80).

Die Proteinasen bauen Proteine des Organismus ab, ein physiologischer Vorgang von entscheidender Bedeutung bei allen biochemischen Reaktionen. Wie bereits unter 2.3 und 2.3.5 erwähnt, kann Elastase nachweisbar in vitro zahlreiche wichtige Strukturen des menschlichen Körpers abbauen. Ob beim traumatisch-hämorrhagischen Schock Proteinasen überhaupt in den vermuteten großen Mengen freigesetzt werden und dann ihre proteolytischen Fähigkeiten beibehalten und somit außerhalb der Zellorganellen eine pathologische Wirkung in dem umgebenden Gewebe oder in der Blutbahn entfalten können, ist nach wie vor strittig. Den Proteinasen stehen wirksame Inhibitoren innerhalb und außerhalb der Zellorganellen gegenüber. In der direkten Umgebung der freisetzenden Zelle beobachtete man durch die lysosomalen Proteinasen verursachte Veränderungen wie Degradation von elastischen und

kollagenen Fasern, Schaden an Basalmembranen und Endothelien, Bildung und Anlagerung von Immunkomplexen, die ihrerseits schädlich wirken. Trotz der zahlreichen in vitro Befunde ist der Beweis für die schädigende Wirkung in vivo noch nicht zweifelsfrei gelungen.

3 Proteinaseninhibitoren

Die Erforschung der Proteinasen und ihrer Inhibitoren ist eng miteinander verknüpft. Vorangetrieben wurde sie durch die Untersuchungen bei der Pankreatitis, da hierbei freiwerdenden proteolytischen Enzymen eine Schlüsselrolle bei den Organzerstörungen zugeschrieben wurde (siehe auch 2.6.3). Die Erstbeschreibung dieses Krankheitsbildes erfolgte durch FITZ (FITZ89). Bereits sieben Jahre später gab ČHIARĽ eine bis heute anerkannte Deutung der Vorgänge bei der akuten Pankreatitis (CHIA96). Er beschrieb eine 'intrapankreatische Aktivierung proteolytischer Enzyme' als Ursache der pankreatischen Autodigestion. Aus dieser Sicht heraus wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, um einen Enzymhemmkörper in die Therapie einzuführen und so das Krankheitsbild zu beherrschen. Diese Forschungen ergaben ganze Reihen von Stoffen mit proteinasenhemmenden Eigenschaften:

3.1 Synthetische Inhibitoren

Zahlreiche solche Hemmstoffe wurden zur Identifikation und Strukturaufklärung der Proteinasen entwickelt, man hat Stoffe mit irreversibler und reversibler Hemmwirkung synthetisiert. Zwei Hauptgruppen dienen der Elastaseklassifizierung, einmal die Inhibitoren, welche Serin in Position 195 blockieren und die, die auf Histidin in Position 57 alkylierend wirken.

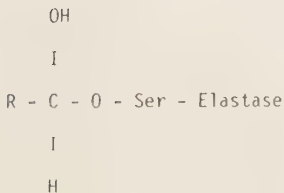
Für Serin 195 verwendet man häufig Diisopropyl phosphoryl fluoridat (NAUG61),

Diäthyl-p-nitrophenyl phosphat (BEND66),

p-iodophenylsulphonyl fluorid (SHOT71).

Um Histidin in Position 57 zu alkylieren, bedient man sich des Chloromethylketons (STAR76a; BIET78).

Die reversibel hemmenden synthetischen Inhibitoren verwendet man bei der Erforschung des aktiven Zentrums der Elastase, ihre Wirksamkeit ist unterschiedlich. Stark hemmende Eigenschaften besitzen die Peptidaldehyde und die Trifluoroacetyl Peptide (TFA). Erstere reagieren wahrscheinlich wegen ihres stark elektropositiven C-terminalen Carbonyl-Kohlenstoffs mit dem Serin 195 der Elastase und bilden ein Halbacetal der nachstehenden Form (THOM73) :



Letztere, die TFA, wurden von DIMICOLI zur Erforschung der Elastase - Peptidreaktion mit der ^{19}F - NMR - Spektroskopie eingeführt. Die Fluoratome scheinen dabei nicht direkt mit der Enzymoberfläche zu reagieren, sondern vielmehr eine Umgestaltung der Elektronenkonfiguration in der Carbonylgruppe zu bewirken, welche die Aktivität des Enzyms entsprechend hemmt (DIM176).

Weitere Inhibitoren sind langkettige, ungesättigte Fettsäuren (ASHE77), die sehr selektiv Leukocytenelastase hemmen, jedoch auf Pankreaselastase keinen Einfluß ausüben. Ebenso verhalten sich die abgeleiteten Alkohole und Nitrile. Goldthiomalat stellt einen weiteren potenten spezifischen Inhibitor dar (STAR76a).

3.1.1 Salze

Die unspezifische Hemmwirkung der Salze auf elastolytische Proteine hängt von ihren Ionenladungen ab (LEW156), wobei die Proteolyse löslicher Proteine nicht betroffen ist (WALF62). Nach GERTLER beruht diese Hemmung auf der abnehmenden elektrostatischen Adsorption der Elastase an Elastin (GERT71).

Die Salze können auch eine spezifische Hemmung bewirken, indem sich das Ion wahrscheinlich an die Aminosäure Histidin in der Position 57 bindet (SHOT71). Nach LEWIS hemmen Cu^{++} -Ionen in der Konzentration von $c = 10^{-5}\text{Mol}$ die Elastase zu 50% (LEW156).

Gold Thiomalat und die korrespondierenden Silber- und Kupferderivate bewirken eine hyperbolische nicht-kompetitive Hemmung der PMN-Elastase und des Cathepsin G, während D-Penicillaminderivate dieser Metalle keinerlei Hemmung bewirken (BAIC84).

Die hohe Toxizität der synthetischen Inhibitoren verbietet ihre Anwendung zu therapeutischen Zwecken.

3.2 Natürliche Inhibitoren

In allen bekannten biologischen Systemen stehen den ubiquitären Proteinasen entsprechende Hemmstoffe gegenüber. In der Medizin sind nur die Proteolysehemmer des menschlichen Organismus und einige wenige aus dem Plasma höherer Säuger von therapeutischem Interesse.

3.2.1 Pflanzliche Inhibitoren

Viele Stoffe dieser Gruppe wirken auf Elastase, ihnen kommt zur Zeit zumindest keine therapeutische Bedeutung zu.

Der erste pflanzliche Inhibitor - aus Sojabohnen - wurde 1944 von den Gruppen um BOWMAN und HAM entdeckt (BOWMAN 44; HAM 44). Das MW beträgt etwa 22000 D, der Hemmstoff verbindet sich mit Trypsin stochiometrisch, reversibel und pH-abhängig. Er wurde als Modellsubstanz für Untersuchungen der Kinetik und Dynamik der Trypsininhibition verwendet. Bei der Pankreaselastase hemmt der Inhibitor nur die unspezifische proteolytische Aktivität, auf die Leukocytinelastase wirkt er nur sehr schwach (GÖLZ69; BIET80). Beim Menschen verbietet sich die Anwendung wegen toxischer Wirkungen.

Der Gartenbohnen Trypsin Inhibitor II besitzt ebenfalls zwei aktive Zentren, eines für Trypsin und eines für Elastase. Der aus Kartoffeln gewonnene Chymotrypsin-Inhibitor I besteht aus vier Subgruppen mit einem Gesamt-MW von 39000 D, er ähnelt dem

Hühnereiinhibitor mit seinen drei unabhängigen aktiven Zentren für Elastase, Trypsin und Chymotrypsin. Der Inhibitor II ebenfalls aus der Kartoffel hingegen besitzt mehr Ähnlichkeit mit dem Truthahnninhibitor mit dem MW von 20000 D und den beiden Bindungsstellen für Trypsin und wiederum Chymotrypsin gemeinsam mit Elastase. Eine umfassende Übersicht findet man bei Bieth (BIET78). Über die physiologische Bedeutung dieser Gruppe von Inhibitoren ist wenig bekannt.

3.2.2 Tierische Inhibitoren

Der sogenannte 'Hühnereiinhibitor' hat ein MW von 46500 D; er besitzt unabhängige Bindungsstellen für Elastase, Trypsin und Chymotrypsin. Der Truthahn Ovomucoidinhibitor (MW 28000 D) hat nur zwei Bindungsstellen, eine für Trypsin und eine gemeinsame für Chymotrypsin und Elastase (BIET78).

Aprotinin

Der einzige in ausreichenden Mengen verfügbare und therapeutisch eingesetzte Inhibitor ist das Aprotinin. Es ist ein Serinproteinasenhemmer, der erstmals von der Gruppe um FREY und WERLE 1930 beschrieben wurde. Es gelang die Gewinnung in größeren Mengen aus Rinderparotis und -lunge (300-400 KIU/g bzw. 1000 KIU/g) (FUSS80). KUNITZ gelang 1936 die Reindarstellung und Strukturaufklärung (KUNI36). FREY führte 1953 das Aprotinin zur Behandlung der akuten Pankreatitis in die Klinik ein.

Aprotinin ist ein basisches Polypeptid mit einem MW von etwa 6513 D, gebildet aus insgesamt 58, davon 16 verschiedenen Aminosäuren (FUSS80). (Abb. 1)

Bei physiologischen Zuständen liegt es in dimerer Form vor mit nur geringem Anteil Monomerer (ANDE65; KRAU60), sein pI liegt zwischen 10-10,5 (CHAU64). Im pH-Bereich zwischen 2-11 erweist es sich als sehr stabil gegenüber Denaturantien und pH-Änderungen (FUSS80). Die Strukturanalysen von DEISENHOFER ergaben, daß das Molekül das Aktivitätszentrum der Proteinasen vollständig abdeckt (DEIS74). Die freie Aminogruppe des Lysinrestes in Position 15 entscheidet die Hemmwirkung des Aprotinins (FRIT71), sie beschränkt sich auf Trypsin, alpha-Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein und Acrosin. Es hemmt nicht Pepsin, Leberesterase, Thrombin, Carboxypeptidase A und B und viele andere, der inhibierende Einfluß auf PMN-Elastase ist sehr gering und nur in sehr hoher Dosierung nachweisbar (FUSS80).

Studien zur Pharmakologie bei Ratten ergaben, daß der Inhibitor sofort nach der Injektion in geringen Mengen in allen Organen des Körpers nachgewiesen werden kann, jedoch sich sehr schnell in der Leber anreichert, wo er nach ca. 30 Minuten ein Maximum erreicht. Nach zehn Minuten Latenz beginnt die Anreicherung im Nierengewebe, dort überschreitet nach etwa einer Stunde die Konzentration diejenige in der Leber; weniger als 10% verbleiben zirkulierend (FUSS80). Nach etwa vier bis fünf Stunden findet sich nahezu die gesamte Menge des Inhibitors in aktiver Form im Nierengewebe. In biologisch aktiver Form werden im Laufe mehrerer Tage nur geringe Mengen ausgeschieden (Tritium-markiertes Aprotinin) (TRAU64). Abbau und Ausscheidung in inaktiver Form erfolgen in der Niere. Die Halbwertszeit im Blut beträgt etwa 150 Minuten nach Erreichen des Verteilungsgleichgewichtes (FUSS80).

Daraus ergibt sich, daß die für eine Therapie vorgeschlagenen hohen Mengen Inhibitor nur i.v. verabreicht werden können, da nur

so dauernde hohe Blutspiegel erzielbar sind. Intraperitoneale, intramuskuläre, subcutane, rektale oder orale Applikation zeigte keinen Erfolg (WERL61).

Die Toxizität scheint sehr gering zu sein, es wurde jedoch über seltene allergische Reaktionen bei Patienten mit allergischer Vorgeschichte berichtet (BEUC63).

3.3 Proteinaseninhibitoren im menschlichen Plasma

Die Eigenschaften des menschlichen Plasmas, proteolytische Enzyme zu hemmen, entdeckten die Gruppen um FERMI, CAMUS und HAHN schon Ende des letzten Jahrhunderts (FERM94; CAMU97; HAHN97). Kurz darauf berichtete LANDSTEINER über erste Versuche, Proteinasehemmer zu isolieren (LAND00). Dies gelang aber erst 38 Jahre später durch SCHMITZ (SCHM38), der dabei die von KUNITZ und NORTHROP zwei Jahre früher entwickelten Methoden zur Isolierung der Pankreasproteinasen-Inhibitoren anwandte (KUNI36). In den folgenden Jahren entwickelten verschiedene Forschergruppen elektrophoretische Verfahren zur Isolierung der Inhibitoren (DESP39; SHUL52; JACO53,55). Daraufhin gelang die Darstellung unterschiedlicher Inhibitoren durch mehrere Arbeitsgruppen in den nächsten Jahren.

1954-55 entdeckten BROWN und SCHULTZE unabhängig voneinander das α_2 -Macroglobulin (BROW54; SCHU55). Im Jahr danach fand SCHULTZE im Serum ein α_1 -3,5-Glycoprotein (SCHU55), welches sich später (SCHU62a) als mit dem 1958-59 von MOLL und BUNDY entdeckten α_1 -Antitrypsin identisch erwies (MOLL58; BUND59). Ebenfalls 1962 entdeckte man das α_1 X-Glycoprotein, das drei

Jahre später als das α_1 -Antichymotrypsin erkannt wurde (SCHU62b; HEIM65).

Viele Gruppen suchten nach dem Antithrombin III (LOEB56; MARK59; HENS63), jedoch erst den Arbeitsgruppen um ABILGAARD und HEIMBURGER gelang der Nachweis im Jahr 1967 (ABIL67; HEIM67). Letztere konnten zwei Jahre früher die Entdeckung des Inter- α -Trypsin Inhibitors bekannt geben (HEID65), welcher dem von STEINBUCH 1961 entdeckten Protein π entspricht (STEI61). Auch die C1-Esterase wird durch Serum inaktiviert, den Nachweis erbrachten RATNOFF und LEPOW 1957 (RATN57).

Lange Zeit wurden ständig 'neue' Inhibitoren entdeckt, genauere Forschungen zeigten die Identität mit früher gefundenen. Auch eine einheitliche Nomenklatur gab es lange nicht, so waren oft dieselben Enzyme mit den verschiedensten Namen benannt.

Die Plasmaproteinasen-Inhibitoren stellen nach heutigem Wissensstand gewichtsmäßig die drittgrößte Gruppe der Funktionsproteine nach Albumin und Immunglobulinen im menschlichen Plasma. Ihre physiologische Bedeutung konnte bis heute nicht endgültig geklärt werden. Bei manchem angeborenem Mangel an Inhibitor kann man aus dem entstehenden Krankheitsbild rückschließen auf die Rolle des Enzyms (familiäres Lungenemphysem bei α_1 -PI-Mangel), jedoch ist nicht bei jedem nachgewiesenen Mangel auch eine Erkrankung bekannt. Darüberhinaus sollen die Inhibitoren über ein breites Wirkungsspektrum verfügen, während bei Patienten mit entsprechenden Mangelzuständen sich stets nur eine Krankheit ausprägt; die anderen vermuteten Ausfallerscheinungen treten nicht auf (TRAV82).

Heute bekannte und untersuchte Inhibitoren des menschlichen Plasmas:

α_2 -Makroglobulin
 α_1 -Proteinaseninhibitor
 Antithrombin III
 α_2 -Antiplasmin
 α_1 -Antichymotrypsin
 C1'-Inhibitor
 Inter- α -Trypsin Inhibitor
 β_1 -Anticollagenase
 α -Cysteinproteinasen Inhibitor
 Heparin-Cofaktor II
 Protein C Inhibitor

3.3.1 Alpha₂-Makroglobulin (alpha₂-M)

Dieser Inhibitor unterscheidet sich grundlegend von allen anderen. Wenn er mit einer Proteinase einen Komplex bildet, verliert diese nur ihre proteolytische Wirkung auf hoch-, nicht jedoch auf niedermolekulare Substrate (HAVE62).

Er ist ein großes tetrameres Glykoprotein mit einem MW von 725000 D, 8 - 11% Kohlenhydratanteil, aus vier identischen Untereinheiten zusammengesetzt, deren MW je 185000 D beträgt (TRAV82). Jedes Teil besteht aus etwa 1450 Aminosäuren; am aminoterminalen Ende steht ein Serin und am carboxyterminalen ein Alanin (SWEN79; HALL81). Die Untereinheiten sind paarweise durch

Disulfidbindungen aneinandergelagert. Zwei Paare bilden nichtkovalent das native tetramere α_2 -M - Molekül (STAR77d; HARP76). Die Untersuchungen seiner Reaktionsmechanismen führten zu den folgenden drei Arbeitshypothesen :

- a) Die 'Fallentheorie' von BARRETT & STARKEY (BARR73),
- b) die kovalente Bindung zwischen Enzym und Inhibitor,
- c) die Adhärenzreaktion.

Die 'Fallentheorie'

Ausführliche Betrachtungen über diese Reaktionsmöglichkeit finden sich bei STARKEY und BARRETT (STAR77d; BARR81).

Dabei soll eine aktive Endopeptidase mit einer bestimmten Sequenz einer α_2 -M - Untereinheit eine lockere Bindung eingehen, dann die anvisierte Peptidbindungsstelle - Valyl-histidylbindung für PMN-Elastase und Phenylalanyl-tyrosylbindung für Cathepsin G (VIRC83) - hydrolysieren und dadurch eine rasche Konformationsänderung bewirken, durch welche der Inhibitor die Proteinase physikalisch umschließt. So werden die aktiven Zentren des Enzyms blockiert. Auf diese Art soll das α_2 -M Proteinase aller vier Klassen hemmen können. Alle Ergebnisse deuten auf Proteolyse an den Untereinheiten als Startreaktion hin (BARR73; HARP73). Es gibt somit eine bestimmte Region - 'Starter'-, an der die 'offene Falle' ausgelöst wird, sie soll aus einer Sequenz von 27 Aminosäuren bestehen (MORT81). (Abb. 2)

Bei dieser Inhibition verlieren Plasmin und Elastase über 99% ihrer Aktivität gegen Fibrinogen bzw. Tropoelastin (HARP73b; KUEP81). Die verbleibende Aktivität gegen niedermolekulare Proteine des Elastase - α_2 -M Komplexes wurde für die

Entstehung von Lungenschäden verantwortlich gemacht, dabei soll es zu einem Elastinabbau kommen (GALD79; STON79). Die entstandenen Komplexe sind irreversibel, eine einmal gebundene Proteinase verbleibt im Komplex, welcher dann von den Zellen des reticuloendothelialen Systems (RES) abgebaut wird (TRAV82; NILE67; OHLS76b; IMBE81).

Die Reaktionsgeschwindigkeiten für neutrophile Elastase betragen $k_{\text{ass}} = 4,0 \times 10^7$ bzw. $3,1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ für Cathepsin G (VIRC82).

Folgende Schlußfolgerungen ergeben sich aus den Untersuchungen:

- a) Das α_2 -M kann maximal zwei Moleküle Proteinase 'fangen', aber nur eines ist nötig, um die 'Falle' auszulösen (HOWE83);
- b) es zeigen sich Unterschiede zwischen der 'Fallenreaktion' und einer weiteren, bei der eine definierte Zahl von Bindungsstellen gesättigt wird (BARR81).
- c) Die 'aktive Tasche' ist so flach, daß nicht das ganze Molekül eingeschlossen wird. Das aktive Zentrum der Proteinase bleibt frei und niedermolekulare Substrate können weiterhin proteolytisch weiterverarbeitet werden (TRAV82).

Die kovalente Bindung

Seit einigen Jahren kennt man die kovalente Bindung zwischen Proteinasen und α_2 -M (SALV80; WU 81; HARP77; SOTT81a; VANL81), welche nicht nur auf Proteinasen beschränkt ist, die jedoch gebraucht wird, um die Reaktion zu starten. So entsteht ein 'nascierendes' α_2 -M, welches mit jedem nucleophilen Teilchen reagieren kann (SALV81; SOTT81b,82). Je nach Proteinase werden verschiedene Mengen gebunden, zB. Rindertrypsin zu 67%, neutrophile Elastase zu 17% (SALV80; WU 81). Die Bindung soll

über die Lysinseitenketten der Proteinasen erfolgen (SALV81). Weitere Forschungen sind erforderlich, da viele Aspekte der Reaktion noch im Dunkeln liegen (Abb. 3).

Die Adhärenzreaktion

Neben den Reaktionen des α_2 -M mit aktiven Proteinasen gibt es weitere mit verschiedenen proteolytischen Enzymen, die weder der 'Fallenreaktion' noch der kovalenten Bindung entsprechen. Sie gehören in diese Gruppe und sollen durch mehrere Teile des Enzyms bewirkt werden (BARR81). Die elektrostatischen und hydrophoben Molekularkräfte vermitteln die Anlagerung basischer Proteine, zB. Carboxypeptidase A (BARR73), Histone (STOL78) u.a.. Wahrscheinlich erfolgt auf diesem Weg auch die Adhärenz an Zellmembranen und Liposomen (BLAC76; NACH76). Es handelt sich um reversible Anlagerung, eine Konformationsänderung ist unbekannt (TRAV82).

TRAVIS et al. favorisieren die 'Fallentheorie', da sie ihrer Meinung nach die umfassendste Erklärung aller beim α_2 -M beobachteten Phänomene bietet, wenn auch manche Beobachtungen für die beiden anderen Möglichkeiten sprechen (TRAV82). Weitere Untersuchungen dieses einzigartigen Inhibitors sind sicher notwendig.

Die physiologische Bedeutung des α_2 -M bleibt unklar. Bei der Gerinnung und Fibrinolyse schreibt man dem α_2 -M eine Kontrolltätigkeit durch Hemmung des Plasmakallikreins und Plasmins

zu, wobei die Wirkung auf das Kallikrein nur schwach sein soll (VIRC84). An Bedeutung gewinnt es nur, wenn die lokale oder systemische Konzentration des α_2 -AP oder AT III deutlich sinkt, zB. bei der disseminierten intravasalen Koagulation (DIC) oder thrombolytischen Therapie (TRAV82).

Auch bei den PMN-Proteinasen Elastase und Cathepsin G soll es nur eine untergeordnete Bedeutung haben gegenüber dem α_1 -PI (Elastase) und dem α_1 -AC (Cath.G) (VIRC84).

Die Zellen des RES bauen den α_2 -M-Proteinasenkomplex rasch ab, woraus man eine Kontrollfunktion der proteolytischen Aktivität in der Zirkulation ableitet (TRAV82). Möglicherweise ist das α_2 -M die Endstufe der Inhibition, da es Proteinasen von anderen Inhibitoren übernehmen und diese so reaktivieren soll (BEAT82b). Darüberhinaus mag es eine Rolle beim Abwehren eindringender Pathogene und Parasiten spielen (STAR77d), vielleicht ist er sogar ein Teil des Immunsystems. Es ist der universelle Inhibitor des intravasalen Raumes. Mangelzustände und damit zusammenhängende Krankheitsbilder kennt man nicht.

3.3.2 α_1 -Proteinaseninhibitor (α_1 -PI)

Dem früher als α_1 -Antitrypsin bekannten Inhibitor widmeten zahlreiche Forscher ihre Aufmerksamkeit, als man entdeckte, daß sich bei vielen Patienten mit angeborenen Mangel dieses Hemmstoffes (unter 15% des normalen Blutspiegels) bereits in jungen Jahren eine Lungenerkrankung - familiäres Lungenemphysem - entwickelt (LAUR61; ERIK64, 65). Der heute als α_1 -PI be-

zeichnete Inhibitor ist ein Hemmstoff, der sehr wirksam die Aktivitäten praktisch aller bis heute gefundenen Serinproteinasen höherer Säuger inhibiert, indem er mit jenen Komplexe bildet und so proteolytische Vorgänge z.B. in der Lunge beeinflußt (PANN74). Die Inaktivationsgeschwindigkeit für neutrophile Granulocyten-elastase beträgt nach BIETH $k_{ass} = 6.5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, für Thrombin dagegen nur $k_{ass} = 4.8 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$. Die Werte für die anderen Proteinase liegen zwischen diesen beiden Extremen.

Der menschliche α_1 -PI ist ein Glycoprotein mit einem M_w von etwa 53000 D, bestehend aus einer einzelnen Kette ohne innere Disulfidbindungen. Eine ungewöhnliche Eigenschaft, deren Bedeutung unklar bleibt, ist die intermolekulare Disulfidbindung zwischen einem einzigen Cysteinylnrest und einem Cystein oder Gluthation. Möglicherweise existiert das Molekül in seiner nativen Form mit einer freien Thiolgruppe, an der angreifende Oxidantien den Inhibitor inaktivieren können. Die Kette besitzt 364 Aminosäuren, deren N-terminales Ende aus einer Glutaminsäure und dessen C-terminales aus einem Lysin und einem einzelnen Cystein besteht (KURA81; TRAV82).

Vom humanen α_1 -PI kennt man mittlerweile 20 verschiedene Formen, deren genetische Kodierung nach dem sogenannten Pi - System katalogisiert wird (FAGE70; PIER76). Der verbreitetste Typ ist Pi_M : Die Unterschiede bestehen sowohl bei den Aminosäuresequenzen als auch in der räumlichen Konfiguration. Selbst in homozygoten Menschen vom Typ Pi_{MM} finden sich bis zu fünf Isoformen, zwei Haupt- und drei Nebenformen (JEPP78). Die verschiedenen Enzymformen existieren in unlöslicher polymerisierter Form in Einschlußkörperchen des rauen endoplasmatischen Retikulums der Hepatocyten und werden unterschiedlich stark und

schnell sezerniert (LIEB72; ERIK75). Die Plasmakonzentration des Pi_{NM} beträgt etwa 100 - 130 mg/100ml (TRAV73; JEPP78).

Obwohl der α_1 -PI zahlreiche Proteinasen hemmt, kann aus der Hemmwirkung allein nicht auf die physiologische Bedeutung geschlossen werden. Wie die kinetischen Daten zeigen, scheint die tatsächliche Funktion in der Kontrolle der neutrophilen Elastase zu liegen (BEAT80), da die k_{ass} etwa zehnmal höher ist als die der anderen bis jetzt untersuchten Inhibitoren:

Patienten mit α_1 -PI-Mangel entwickeln rasch und im frühen Alter ein Lungenemphysem (LAUR63). Die Entstehung des Emphysems geht allgemein mit gesteigertem Umsatz des Lungengewebes, besonders Elastin, einher (MITT72).

Die Hemmwirkung mit den Serinproteinasen wird wahrscheinlich durch proteolytische Reaktion bewirkt, wobei der Inhibitor das Substrat für das Enzym darstellt. Dabei zeigten die Untersuchungen eine kovalenzähnliche Bindung des Inhibitors und des Enzyms an die Serinstelle des aktiven Zentrums (TRAV82). Vom α_1 -PI wird dabei am carboxyterminalen Ende eine Peptidkette abgespalten (CARR82; KURA81; CARR81). Entscheidend für die Funktion des Inhibitors ist die Methionyl-Serylkomponente des aktiven Zentrums, wie Versuche mit Oxidantien, bei der Phagocytose und mit Zigarettenrauch zeigten (TRAV82; CARP79; JAN077; OHLS80; ABRA81; BEAT82). Die Oxidation setzt dabei die k_{ass} um den Faktor 10^3 herab. Da Elastin der Lunge und α_1 -PI kompetitiv das aktive Zentrum der Elastase besetzen, kann somit die Schutzwirkung des Inhibitors weitgehend verloren gehen (REIL80).

3.3.3 Antithrombin III (AT III)

Das menschliche AT III ist ein Serunglycoprotein mit einer mittleren Konzentration von 29 mg/100ml. Seine Bedeutung besteht in der Kontrolle der Serinproteinasen der Blutgerinnungssysteme (TRAV82). Die Fähigkeit, Thrombin zu hemmen, wird durch Heparin noch verstärkt, die k_{ass} steigt von 10^3 auf 10^5 an (ABIL68; ROSE73). Dies soll durch eine allosterische Aktivierung geschehen.

Es handelt sich um ein einkettiges Protein mit sechs Disulfidbindungen, 15% Kohlenhydratanteil und einem MW von 58000 D (MILL74; KURA76; NORD77). Die Aminosäuresequenz ist weitgehend homolog zu der des α_1 -PI.

Der AT III - Thrombinkomplex ist ziemlich stabil, obwohl er bei Thrombinüberschuß wieder proteolysiert wird. Die PMN-Elastase kann ebenfalls AT III inaktivieren, wird aber selber nicht angegriffen (JOCH81).

Obwohl das AT III noch weitere Proteinase und auch die Faktoren IXa, Xa, XIa, Plasmin, Plasmakallikrein, Trypsin und Chymotrypsin hemmt (TRAV82), liegt seine Aufgabe in der Steuerung der Thrombinaktivität, wie die Vergleiche der kinetischen Daten mit denen der anderen Reaktionen zeigen.

3.3.4 α_2 -Antiplasmin (α_2 -AP)

Dieser Plasmininhibitor wurde 1974 von MÜLLERTZ postuliert (MULL74,76).

Das α_2 -AP ist ein einkettiges Glycoprotein mit 11% Kohlenhydratanteil, einem MW von 65000 - 70000 D und hat ein Asparagin am amino- und ein Leucin am carboxyterminalen Ende stehen (MOR076; WIMA77,79); die Konzentration im Plasma beträgt 6mg/100ml (MATS79).

Die Reaktion mit Plasmin erfolgt sehr schnell und efficient, $k_{ass} = 1,8 - 3,8 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, von den anderen Substraten hat nur das Trypsin noch eine ähnliche Reaktionsgeschwindigkeit, k_{ass} liegt bei $1,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, jeweils bei 25°C. (WIMA78).

Das α_2 -AP beeinflusst die Fibrinolyse und die Auflösung von Klots (COLL79) und kontrolliert vielleicht einige Plasminogenaktivatoren (WIMA81). Weitere Wirkungen sollen unbedeutend sein (TRAV82). Es ist ein 'Akut-Phase-Protein' (s. u.). Von Patienten mit α_2 -AP Mangel weiß man, daß Blutungsepisoden auftreten (AOKI79,80). Weitere Untersuchungen stehen noch aus.

3.3.5 Alpha₁-Antichymotrypsin (alpha₁-AC)

Auch das α_1 -AC ist ein Plasma-Glykoprotein, 1962 von Schultze entdeckt (SCHU62). Es ist ein bedeutendes 'Akut-Phase-Protein', dessen Konzentration im Plasma - normal bei 25 mg/100ml - sich bei den verschiedensten Ereignissen - Verbrennungen, Operationen, M. Crohn, Colitis ulcerosa, einige Karzinome - binnen acht Stunden verdoppeln kann (TRAV82).

Sein MW beträgt zwischen 58000 D und 68000 D, abhängig von der Darstellungsweise und es hat einen hohen Kohlenhydratanteil von 25% (SCHU62; LAIN81). Die Rolle, welche dem α_1 -AC zukommt, bleibt ungeklärt. Es inhibiert spezifisch chymotrypsin-ähnliche

Proteinasen, darunter Cathepsin G, mit denen es stabile Komplexe bildet, es reagiert nicht mit menschlichem Trypsin und Elastase (TRAV78). Möglicherweise greift es in die Steuerung von 'Killer-Lymphocyten' ein und beeinflusst damit die Tumorelimination (HUDI81; GFF80; KOND82), die genauere Abklärung fehlt.

3.3.6 C1'-Inhibitor (C1'Inh)

Wiederum handelt es sich um ein einkettiges Glykoprotein mit einem MW zwischen 96000 D - 104000 D mit 35% Kohlenhydratanteil, die Konzentration im Plasma schwankt um 17 mg/100ml (HAUP70). Es ist der einzige bekannte Inhibitor für C1'r und C1's im Plasma (SIM 79). Möglicherweise nimmt es eine wichtige Stellung bei der Aktivierung des Komplements und der Kinine ein (TRAV82).

3.3.7 Inter - Alpha - Trypsin Inhibitor (IalphaI)

STEINBUCH isolierte 1961 diesen Inhibitor aus dem menschlichen Plasma (STEI61). Vier Jahre später entdeckten HEIDE et al. seine Fähigkeit, Trypsin zu hemmen (HEID65), wobei instabile Komplexe gebildet werden. PMN-Elastase und Cathepsin G sollten nach TRAVIS nicht beeinflusst werden (TRAV82), JOCHUM und ALBRECHT konnten jedoch im folgenden Jahr zeigen, daß zumindest die PMN-Elastase gehemmt wird (JOCH83b; ALBR83).

Man weiß, daß IalphaI als 'Akut-Phase-Protein' bei verschiedenen Krebserkrankungen (CHAW78) oder Entzündungsreaktionen (HOCH77a;b)

sehr hohe Plasmaspiegel erreicht, trotzdem gibt es nur wenige Untersuchungen und die Bedeutung dieses Inhibitors bleibt unbekannt.

Nachdem die Schwierigkeiten bei der Reindarstellung überwunden waren, fand man ein einkettiges Glykoprotein mit einem MW von 180000 D, welches 8,4% Kohlenhydratanteil und fast ein Grammatom Zink enthält. Am aminoterminalen Ende steht ein Arginin, weitere Strukturaufklärung wurde nicht betrieben (TRAV82). Der Reaktionsmechanismus ist unbekannt.

3.3.8 Beta₁-Antikollagenase (B₁-AC)

B₁-AC ist einer von den drei Kollagenasen hemmenden Inhibitoren neben alpha₂-M und einem nicht charakterisierten kationischen Protein (BORT81). WOOLEY et al. entdeckten und beschrieben es erstmals 1975 (WOOL75,76). Es ist wiederum ein einkettiges Glykoprotein (MW 30000 - 33000), das nur Spuren von Kohlenhydrat enthält. Es besitzt zwei freie Thiolgruppen, deren eine für die normale Funktion bedeutend ist. Der Inhibitor hemmt spezifisch Kollagenasen durch Bindung über Thiol - Disulfid Wechselwirkungen, der entstehende Komplex entspricht einem solchen, der auch in neutrophilen Granulocyten gefundenen wurde (TSCH81). Ein Einfluß auf andere Proteinasen ließ sich nicht nachweisen. Die physiologische Bedeutung konnte bis heute nicht geklärt werden.

3.3.9 Alpha - Cystein Proteinasen Inhibitor (alpha-CPI)

Die Entdeckung des alpha-CPI gelang JARVINEN 1976 (JARV76). Der Inhibitor ist ungewöhnlich vielgestaltig, sein MW liegt zwischen 57000 D und 175000 D und ist in den α_1 - und α_2 - Fraktionen der Immunelektrophorese nachweisbar (RYLE79; JARV79). Diese Unterschiede schreibt man der multimeren Form des Inhibitors zu. Die Plasmakonzentration beträgt 50 mg/100ml. Soweit bekannt, ist der Inhibitor hochspezifisch für Cysteinproteinasen (TRAV82), unklar bleibt die physiologische Funktion, da man keine zirkulierende Proteinase kennt, die mit Cysteinkatalyse arbeitet. Solche sind nur innerhalb der Zellen vorhanden (BARR80c). Vielleicht erfolgt die Hemmung bei Zellschäden oder -tod mit konsekutiver Enzymfreisetzung.

3.3.10 Antileukocytenproteinase (ALP)

Dabei handelt es sich um einen sogenannten 'low weight inhibitor', also einen mit niedrigem Molekulargewicht, hier von 10500 D. Neben verschiedenen anderen Orten findet er sich in den sekretorischen Zellen des Bronchiolenepithels und im distalen Respirationstrakt. Er scheint dort der gewebestandige Hauptinhibitor der PMN-Elastase zu sein, analog zum α_1 -PI im Plasma, wo die ALP in freier Form nur in Spuren (125 μ g/l) nachweisbar ist. Interessanterweise kann α_1 -PI den Elastase-ALP Komplex wieder spalten und selber mit der Elastase reagieren. Die ALP erscheint dann wieder in freier Form nachweisbar. Vorbehaltlich weiterer Erkenntnisse muß man derzeit annehmen, daß die ALP der

wichtigste lokale Inhibitor der Lunge ist (OHLS84). In vitro Experimente ergaben, daß ein kleiner Teil der ALP im Plasma an α_2 -M gebunden auftritt.

Zwei weitere Inhibitoren des menschlichen Plasmas wurden vor kurzem entdeckt und charakterisiert. Einmal der Heparin Cofactor II, ein einkettiges Glycoprotein (MW 65000 D - 70000 D), welches Thrombin hemmt. Die Hemmwirkung steigt um den Faktor 10^3 bei optimalen Heparinkonzentrationen.

Zum anderen ein Inhibitor des Protein C mit MW bei 96000 D, ebenfalls ein Glycoprotein. Dieser Inhibitor besitzt ähnliche Struktur wie der KUNITZ-Inhibitor.

In beiden Fällen ist die physiologisch Bedeutung unbekannt (TRAV82).

Über die Inhibitoren im Zytosol der PMN-Leukocyten selber ist praktisch nichts bekannt.

Aus dem oben Ausgeführten ergibt sich, daß α_2 -M rasch und effektiv in den Blutstrom gelangende Proteinasen aller Klassen hemmen kann, während dem α_1 -PI dieselbe Aufgabe bei der neutrophilen Elastase zukommt. Besonders bei ausgedehnten Weichteilverletzungen und Skelettzertrümmerungen gehen zahlreiche Zellen zugrunde. Eine massive Freisetzung intracellulärer lysosomaler Enzyme durch die unter 2.4. beschriebenen Mechanismen soll dabei stattfinden und eine wichtige Ursache für die Schädigungen der Organstrukturen durch Proteolyse sein. Auf dieser Annahme basieren die Therapieversuche mit Inhibitoren.

Diskussion

Welche Rolle spielen nun die Proteinasen der PMN-Leukocyten tatsächlich beim traumatisch-hämorrhagischen Schock? Ist der Therapieversuch mit Inhibitoren genügend fundiert und zeigen sich Erfolge? Bleiben die Denkmodelle weiterhin gültig oder müssen sie modifiziert werden?

Der Schock betrifft alle Systeme und Organe des Körpers, jedoch in sehr verschiedenem Schweregrad. So wird heute davon ausgegangen, daß Herz, Leber, Niere und Darm "im Schock" in der Regel nur bei langdauernden Schockzuständen gravierende Schaden entwickeln: "Schockherz, -leber, -niere" (SCHL83a; MEIS83; LIS083; DIRS83;).

Die größte Gefahr für den Patienten - nach Häufigkeit und Schweregrad - erwächst aus der 'posttraumatischen pulmonalen Insuffizienz' (PTPI; ARDS), auch bekannt unter 'akutes Lungenversagen, wet lung, Fettemboliesyndrom' und vielen anderen Bezeichnungen (SCHN74; BLAI77; STUR79; NERL83). Die PTPI entwickelt sich in den ersten Stunden nach Schockeintritt (SCHL83b; SEFR83). Sie wird in zwei (REDL79) bzw. drei (RIED79) Stadien eingeteilt: Initial-, Früh- und Spatphase. Die Letalität bei der PTPI beträgt trotz modernster Intensivmedizin 52% (HURD81) bis 80% (RIED79) mit glücklicherweise fallender Tendenz.

4.1 Schockbedingte pathologische Veränderungen in der Lunge

Während der ersten halben Stunde nach Schockbeginn ändert sich die Form der Erythrocyten im Sinne eines 'Geldrollenphänomens', ihre Rigidität nimmt zu. Zwischen diesen Erythrocytensäulen wandern immer mehr polymorphkernige neutrophile Leukocyten (PMN) in die Alveolarcapillaren ein. Die PMN-Leukocyten runden sich ab, haften fest am Endothel und verlegen das Lumen noch mehr. Diese festsitzenden PMN-Leukocyten ('Leukocytensticking') beginnen mit der Freisetzung lysosomaler Proteinasen (HEIN81). Nach der ersten Stunde hat sich eine massive PMN-Cytose in den Kapillaren und Ödeme des Kapillarendothels, des Alveolarepithels und - geringer - des interstitiellen Raumes ausgebildet. Thrombocyten und fibrinreiche Thrombocytenaggregate fehlen in dieser 'Initialphase' völlig (SEFR83).

Den Untersuchungen von SCHLAG (SCHL82b) zufolge soll die Ursache der Granulozytenaktivierung im Komplementsystem liegen, besonders das C5 wird beeinflußt. Das System wird vermutlich über den alternativen Weg durch das Gewebetrauma aktiviert. Das aktivierte C5 führt zur peripheren Granulozytenaggregation. Weitere Mediatoren wie Histamin und Anaphylatoxin (C5a) werden freigesetzt.

Die durch das Schockereignis gesteigerte Katecholaminproduktion mobilisiert randständige Granulozyten, eine periphere Leukocytose bildet sich aus (SEFR83).

In der anschließenden 'Frühphase' füllen etwa acht Stunden nach Schockbeginn viele degranulierte PMN-Leukocyten mit an deren

Oberfläche haftenden Fibringlobuli die Alveolarsepten aus, Endo- und Epitheldefekte sind entstanden (SEFR83; BENZ82; RIED79; REDL79). Eine diffuse Lungenschädigung hat sich entwickelt (RATL71).

In der meist nach 24-48 stündigem Intervall sich manifestierenden 'Spätphase' sind schwerste morphologische Veränderungen eingetreten - Zellveränderungen, hyaline Membranen, Mikroateletasen (s. a. Kap. 2.5.8).

Die morphologischen Veränderungen konnten sehr deutlich gezeigt werden, die Diskussion über ihre Ursachen jedoch dauert an (BLUM79; BLEY70; BURC74; COOK68; KUSA74; REDL83a; SCHL83b; REDL83b).

Die nachweisbaren Endo- und Epithelschaden versucht man durch verschiedene Überlegungen zu erklären:

1. durch massiven Austritt lysosomaler Proteinasen aus den degranulierten Granulozyten (BLUM79);
2. besonders bei Endothelschaden durch toxische Sauerstoffverbindungen (ionisierter Sauerstoff, Radikale, Wasserstoffperoxide), welche neutrophile Granulozyten zur Abtötung phagozytierter Bakterien verwenden (SCHL82; LEFE81b);
3. auf humoralem Weg durch freigesetzte Mediatoren wie Prostaglandine (COOP80), Thromboxane (LEFE79a), aktiviertes Komplement, Histamin, Serotonin oder Fibrinolyseprodukte (LUTE77).

Die beim traumatisch-hämorrhagischen Schock eingetretenen pathologischen Veränderungen lassen sich nicht einem der aufgeführten Gründe allein zuordnen. Offensichtlich handelt es sich hierbei um ein komplexes Geschehen, an dem die verschiedenen Vorgänge gemeinsam beteiligt sind. Der jeweilige Anteil und kausale Ablauf konnte noch nicht sicher aufgeklärt werden und bleibt Gegenstand zukünftiger Forschungen.

4.2 Proteinasen beim traumatisch-hämorrhagischen Schock

Anfang der sechziger Jahre wiesen erste Veröffentlichungen auf eine mögliche Beteiligung proteolytischer Enzyme bei der Pathogenese und Prognose des traumatisch-hämorrhagischen Schocks hin (JAN062; s. a. Kap. 2.6).

Bald darauf ergaben sich erste Hinweise auf eine direkte oder indirekte schädliche Wirkung durch die lysosomalen Proteinase (BARA73). LEFER vermutete, daß diese ein im Kreislauf vorhandenes Peptid in den 'myocardial depressant factor' (MDF) umwandeln (LEFE70a,b; LOVE71; ARAK79b).

Die bis in jüngste Zeit verfügbaren Methoden der PMN-Proteinase-messungen waren sehr aufwendig und von Labor zu Labor nicht vergleichbar, es gelang keine fortlaufende Bestimmung der PMN-Proteinase beim Schockereignis. Deshalb liegen nur Messungen der allgemeinen proteolytischen Aktivität des Plasmas vor (BACK68; DUCK71; KAZU71; LOER76; GORI81; HOER81). Wenn Proteinase Spiegel direkt bestimmt wurden, verwendeten die Autoren das Cathepsin D

als Indikator für die Freisetzung lysosomaler Proteinasen (s. Übersicht), ein nicht eindeutiges Merkmal, da DEMLING gezeigt hatte, daß jene in unterschiedlichem Maße freigesetzt werden (DEML80). Darüberhinaus ist die biologische Bedeutung des Cathepsin D bis heute nicht bekannt.

BURCHARDI infundierte Schweinen Thrombin bzw. Elastase. Folgende pathologische Veränderungen wurden beschrieben:

Der Gefäßwiderstand in der Lunge stieg an;
 es trat eine Leukostasis in der Lunge auf;
 ein progressives Lungenversagen entwickelte sich;
 eine Hyperkoagulabilität mit folgender DIC wurde festgestellt;
 in den Lungen konnte selektiv hohe proteolytische Aktivität nachgewiesen werden (BURC84).

LEE konnte im Lungenspülwasser von Patienten mit PTPI signifikant hohe elastolytische Aktivität nachweisen, dh. offenbar freie Elastase (LEE 84).

Weitere Arbeiten beruhen auf indirekten Messungen - allgemeine Parameter wie Blutdruck, Gerinnungswerte o.ä. - oder auf vereinfachten Modellvorstellungen proteolytischer Aktivitäten, die das komplexe Geschehen im Organismus nur partiell wiedergeben. Die daraus gezogenen Vermutungen und Schlußfolgerungen über die Wirkungen der PMN-Proteinasen können daher nur als erste Hinweise verstanden werden, sie sind nicht direkt übertragbar. Es folgt eine Zusammenstellung verschiedener Autoren, die derartige Studien veröffentlichten:

LUTERMAN, A. untersuchte Fibrinogenspaltprodukte, (FSP) 1977;
 KOLBOW, H. beschrieb Änderungen im Gerinnungssystem (FSP) 1977;
 TRACHTE, G. verwendete Cathepsin D-Messungen 1978;
 LOEGERING, D. ebenso 1978;
 LEFER, A. maß Plasmakonzentrationen des Cath. D und des 'myocardial depressant factor' (MDF) 1979;
 ARAKI, H. ebenso bei der Beurteilung der Aprotinin- und der PGE_1 -Wirkung 1979;
 SOLLOTT, S. ebenso 1979;
 LEFER, A. ebenso bei der Untersuchung des PGI_2 1980;
 HORPACSY, G. versucht eine Zusammenfassung des aktuellen Wissens über lysosomale Enzyme 1980;
 LEFER, A. nimmt Cath. D als Maßstab für die Wirkung von 'Nimodipine' 1981;
 GORIACHEV, A. maß ebenfalls Cathepsin D bei Polytraumen 1982;
 BURCHARDI, H. infundierte kleinen Schweinen Elastase bzw. Thrombin und beschrieb deutliche Veränderungen verschiedener pulmonaler Parameter 1984.

(LUTE77; KOLB77; TRAC78; LOER77; LEFE79b,c; ARAK79a,b; SOLL79; HORP80; LEFE81a; GORI81; BURC84)

4.3 Die Rolle der PMN-Proteinasen Elastase und Cathepsin G

Frühere Messungen der proteolytischen Aktivitäten im Humanplasma bei Schockpatienten ergaben zwar auch eine allgemeine Erhöhung der plasmatischen Enzymspiegel, jedoch konnten keine weiteren

Erkenntnisse über die Rolle der PMN-Proteinasen beim Schock gewonnen werden (KAZU72; SUVA80).

Bekannt ist, daß PMN-Elastase in vitro Lungenelastin abbauen kann, während PMN-Cathepsin G nur schwach auf Elastin wirkt, dafür aber rasch und stark die Mikrofibrillenkomponenten der Lunge angreift (TRAV78b; s.a.Kap. 2.3.5).

Erst in jüngster Vergangenheit entwickelten die Gruppen um NEUMANN und JOCHUM einen brauchbaren Enzym-Immunoassay zur Bestimmung der PMN-Elastase- α_1 -PI Komplexe im Plasma (NEUM81, 83; JOCH83a). Kurz vorher berichtete NARTIKOVA über eine einfache und schnelle spektrometrische Methode zur simultanen Bestimmung von α_1 -PI und α_2 -M (NART79), womit eine indirekte Messung der Elastasefreisetzung möglich wäre.

So konnte erstmals DUSWALD einen deutlichen Anstieg der PMN-Elastasespiegel (nach Menge und Potenz das wichtigste PMN-Enzym (SCHL82)) beim septischen Schock nachweisen (DUSW82). Beim traumatisch-hämorrhagischen Schock fehlen bisher solche Messungen der PMN-Elastase Aktivität. Keiner der Autoren bestimmte die Änderungen der Elastaseaktivität im zeitlichen Ablauf eines Traumas. So konnte die Hypothese von der schädigenden Wirkung der PMN-Elastase noch nicht allgemeingültig begründet werden, da es bis heute nicht einmal gelang, deren vermutete erhöhte Ausschüttung beim traumatisch-hämorrhagischen Schock eindeutig nachzuweisen.

4.4 Tiermodelle

Das Noble-Cullip-drum Trauma (NCDT, dabei werden Tiere in einer Waschmaschinen ähnlichen Trommel bestimmten Umdrehungszahlen pro Minute über einen festgelegten Zeitraum ausgesetzt und ihnen dadurch Frakturen zugefügt), der Tourniquet (die Blutzufuhr einer Extremität wird über eine definierte Zeit hinweg unterbunden), die Kombination eines Weichteiltraumas mit Frakturen der langen Röhrenknochen (meist Femur) der hinteren Extremität sind die bekanntesten und am häufigsten angewandten Versuchsmodelle für den experimentellen traumatisch-hämorrhagischen Schock. Die widersprüchlichen Ergebnisse der veröffentlichten Studien lassen keine eindeutigen Aussagen über die Rolle der PMN-Proteinasen im Schockgeschehen zu.

Wie schon erwähnt, bestimmten die Autoren einzelne klinische oder laborchemische Parameter oder maßen veränderte Überlebenszeiten nach Gabe eines Stoffes, von dem man eine Wirkung auf PMN-Leukozyten oder -Elastase vermutete:

BÜLTING fand 1972, daß eine Behandlung mit Aprotinin die beim traumatischen Schock entstehenden Herzmuskelzellnekrosen verringert - wobei die erste Verabreichung des Aprotinins unmittelbar vor dem Trauma erfolgte - die Letalität wurde nicht beeinflusst (BÖLT72).

SANDGAARD et al. untersuchten Änderungen des arteriellen Blutstroms nach Weichteiltraumen in Abhängigkeit von Aprotiniegaben. Sie vermuteten aufgrund der Ergebnisse einen humoralen Mechanismus bei der Schockentstehung (SAND74).

AVIKAINEN et al. versuchten durch Gabe von AMCA oder Aprotinin erfolgreich die Fibrinolyse beim Schock zu inhibieren, konnten jedoch den Schockverlauf und die Letalität nicht ändern (AVIK74).

RAHMER et al. maßen den lokalen pO_2 an der Muskeloberfläche beim Tourniquet-Schock und verabreichten Prednisolon oder Aprotinin. Beide Male beobachteten sie keine Abnahme des pO_2 und keine Schockzeichen im Gegensatz zur Gruppe unbehandelter Tiere, die alle verstarben (RAHM77).

JONADET et al. gelang es, die Ischämiefolgen beim Tourniquet durch Gabe von Kortisonderivaten oder Aprotinin zu mindern (JONA77).

AUER et al. untersuchten plasmatische und zytoplasmatische Aktivitäten nach Schädel-Hirn-Trauma und postulierten eine allgemeine gesteigerte Proteinasesynthese in den Lysosomen und deutliche Ausschüttung neutraler Proteinase aus geschädigten Granulozyten (AUER79).

LEFER et al. versuchten mit MK-447, einem 'Radikalfänger', die Entstehung des MDF zu verhindern und schrieben jenem eine protektive Wirkung beim traumatischen Schock zu (LEFE81b).

Eine weitere Gruppe von Forschern maß die plasmatische Konzentration der lysosomalen Proteinase Cathepsin D unter verschiedenen Versuchsbedingungen:

SÖLLOTT et al. verabreichten Methylprednisolon beim NCDT und konnten den Anstieg von Cathepsin D und MDF signifikant verringern, parallel dazu stieg die Überlebenszeit an. Sie führten diese Effekte auf eine stabilisierende Wirkung auf die lysosomalen Membranen zurück (SÖLL79).

ARAKI et al. verabfolgten Aprotinin i.v. bei traumatisierten Ratten (NCDT) und beobachteten ebenfalls eine verlängerte Überlebenszeit und verminderte MDF-Konzentration im Plasma, jedoch keinerlei Einfluß auf die des Cathepsin D (ARAK79a).

In einer anderen Serie verwendeten ARAKI et al. die Arachidonsäurederivate '6-keto Prostaglandin E₁' (PGE₁ und weitere wie PGI₁, PTA₂) und verminderten damit die plasmatische Konzentration sowohl des MDF als auch des Cath.D. Ihrer Ansicht nach hat 6-keto-PGE₁ einen direkten membranstabilisierenden Effekt, zumindest bei Katzenleber-Lysosomen (ARAK79b).

LEFER et al. erzielten denselben Erfolg mit verabreichtem Prostacyclin (PGI₂), auch sie postulierten vermindert durchlässige Lysosomenmembranen (LEFE79b).

Gleiche Veränderungen beobachteten LEFER et al. bei der Anwendung von 'Pinan Thromboxan A₂' (PTA₂) (LEFE79a).

Zwei Jahre später prüften sie den Effekt von 'Nimopidine', eines Kalziumantagonisten, und fanden wiederum verminderte Konzentrationen von MDF und Cathepsin D im Plasma, obwohl Nimopidine keine direkt lysosomenstabilisierenden Wirkungen aufweist (LEFE81a).

Hingegen lies sich bei 'Nafazatrom' bei gleicher Wirkung auf MDF und Cath. D eine deutliche Membranstabilisation nachweisen (LEFE82).

Außer Aprotinin und Kortison wurde keines der aufgeführten Mittel am Menschen eingesetzt, da die Ergebnisse sehr uneinheitlich sind, die in vitro beobachteten Wirkungen nicht in vivo nachzuvollziehen waren und toxische Effekte auftraten.

Aprotinin scheint nur minimale negative Nebenwirkungen zu haben und wurde in mehreren klinischen Studien eingesetzt, obwohl die

biochemischen Angriffspunkte nicht geklärt werden konnten. Die Versuche mit diesem Stoff lieferten keine einheitlichen Ergebnisse, manche Forscher fanden überhaupt keinen positiven Effekt, andere Veröffentlichungen beschrieben deutliche und statistisch signifikante schockprotektive Wirkungen. Diese Widersprüche konnten auch in der klinischen Praxis nicht gelöst werden (s. Abschnitt 4.5).

4.5 Klinische Studien

Als MÜRL et al. 1967 bei seinen Patienten eine reduzierte Anzahl sog. 'Fettembolien' verzeichnete, führte er dies auf die Medikation mit Aprotinin zurück und gab damit den Anstoß zum klinischen Proteinasenhemmer-Einsatz (MÜRL67). Diese Studie hatte jedoch eine andere Fragestellung und kann daher nur unverbindliche Hinweise geben.

Es folgten die Berichte von ZIMMERMANN et al. 1971, der mehrere Patientengruppen im traumatisch-hämorrhagischen Schockzustand untersuchte, viele klinische und biochemische Parameter bei den verschiedenen Gruppen maß und verschiedene Therapieformen einsetzte. Er meinte einen positiven Effekt durch eine Heparin-Aprotinin Kombination feststellen zu können, jedoch sind durch die unterschiedlichen Ansatzpunkte dieser Studie und die fehlende Definition des traumatisch-hämorrhagischen Schocks keine allgemeingültigen Aussagen möglich (ZIMM71).

1974 veröffentlichte ECKERT eine klinische Studie, in der eine mit Aprotinin behandelte Patientengruppe einer zeitlich verschobenen Kontrollgruppe gegenübergestellt wurde. Da in beiden Gruppen verschiedene Krankheitsbilder zusammengefaßt wurden und die Zuteilung der Patienten nicht zufallsmäßig geschah, kann auch hier keine gültige Aussage getroffen werden (ECKE74).

SCHNEIDER veröffentlichte zwei Jahre später eine große Feldstudie mit insgesamt 4349 Patienten. Die auf den ersten Blick eindeutig erscheinenden Ergebnisse müssen jedoch differenziert betrachtet werden, da nur bei Aprotininmedikation innerhalb der ersten 30 Minuten post trauma eine signifikant gesenkte Letalität beobachtet wurde. Eine kritische Betrachtung der statistischen Auswertung dieser Studie schränkt die Aussagekraft weiter ein, da die zufallsmäßige Zuteilung der Patienten zu den verschiedenen Gruppen mehrfach durchbrochen wurde (SCHN76).

Im gleichen Jahr veröffentlichte LENNARTZ eine retrospektive Studie, in der Patientengruppen aus aufeinanderfolgenden Jahren verglichen wurden (LENN76). Da auch viele entscheidende Faktoren wie zB. Transportdauer, Beginn und Art der Erstbehandlung, Schockdefinition, Auswahlkriterien etc. fehlen, läßt diese Arbeit keine verbindlichen Aussagen zu.

KOLBOW wandte seine Aufmerksamkeit dem Gerinnungssystem beim Polytraumatisierten zu. Seine Untersuchungen an 35 Patienten ergaben keinerlei therapeutische Wirkungen durch den Einsatz von Aprotinin oder Heparin, obwohl bereits am Unfallort mit der

Medikation begonnen wurde. Eine Einteilung der Traumen wird nicht angegeben (KOLB77).

HARKE setzte bei 18 Patienten Streptokinase zur Fibrinolyse und Proteolyse ein. Er wollte damit die Carnefizierung der Schocklunge verhindern. Obwohl er die pathophysiologischen Zusammenhänge nur vermutete, berichtete er über gute Erfolge. Leider lassen sich in der Arbeit die weiteren Einflüsse der medizinischen Intensivtherapie nicht abgrenzen, auch fehlt eine Kontrollgruppe, die Zahl der Patienten erscheint mit nur $n = 18$ sehr klein (HARK79).

1980 erschien die Arbeit von SUVALSKAYA et al., in der er verschiedene lysosomale Proteinase maß (Kathepsine, saure Hydrolasen, Desoxyribonuklease, Ribonuklease), deren plasmatische Konzentrationen allgemein post trauma deutlich erhöht waren (SUVA80). Leider fehlt eine Einteilung der Traumaschwere. Da nur 18 Patienten in die Arbeit aufgenommen wurden, die noch dazu verschiedene Traumen - eingeschlossen kombinierte SHT und OP-Trauma - erlitten hatten, bleiben die Ursachen der Proteinaseausschüttung ungeklärt.

Eine im folgenden Jahr publizierte Studie von BRIEM konnte die Bedeutung der PMN-Proteinase beim traumatisch-hämorrhagischen Schock auch nicht erhellen, da es sich um nur eine Patientengruppe mit gleicher Medikation (Plasmaexpander, Hydergin, Proteinaseinhibitor, Kortison, Antihistaminika + Kalzium, strogen, Vitamin C) ohne Kontrollgruppe handelt (BRIE81).

MCMICHAN führte im gleichen Zeitraum eine 1982 veröffentlichte kontrollierte Doppelblindstudie an 70 Patienten durch (MCM182). Es wurde in einem Zeitraum bis zwölf Stunden post trauma mit der Therapie begonnen. Bei zusätzlicher Gabe von Aprotinin verringerte sich statistisch signifikant die Zahl der beobachteten pulmonaren Insuffizienzen, es wurde weniger Sauerstoff benötigt und die mechanische Ventilation verbesserte sich. Auch hier geben die Autoren keine Definition und Einteilung der Traumaschwere, letztendlich bleibt die Wirkungsweise des Proteinaseninhibitors und seine Funktion unklar.

Welche Schlußfolgerung erlauben diese widersprüchlichen Ergebnisse? Versucht man, die Arbeiten miteinander zu vergleichen, zeigt sich deutlich, daß es praktisch keine Gemeinsamkeiten gibt. Wenn auch bei den Tiermodellen wenigstens der Versuchsaufbau ähnlich ist, spätestens bei der Durchführung und Auswertung ergeben sich drastische Unterschiede, sei es in der Dosierung, dem Beobachtungszeitraum, der Kombination der verabreichten Medikamente, in der statistischen Auswertung oder der Interpretation der gefundenen Ergebnisse.

Die klinischen Studien zeigen dieselben und weitere Mängel. Hier hat man teilweise Untersuchungen mit anderen Fragestellungen ausgewertet, retrospektive Betrachtungen angestellt, nicht kontrollierte Studien unternommen, eine zufallsmäßige Zuteilung unterlassen oder einfach keine Kontrollgruppen miteinbezogen. Darüberhinaus ist in der Regel die Traumadefinition und -schwere nicht berücksichtigt oder angegeben worden und man hat die Verletzungsursachen ~ Verbrennungen, SHT, direktes Lungentrauma -

nicht unterschieden und beim Planen der Untersuchungen nicht beachtet. Die Schocktiefe und -dauer wurde nirgendwo definiert und die Zeit bis zum Einsetzen der Therapien war stets unterschiedlich, in der Arbeit von MCMICHAN immerhin bis zu zwölf Stunden post trauma, dagegen in der von BÜLTING bereits vor dem Trauma.

Bei allen Untersuchungen hat man nur klinische Befunde oder Laborparameter erhoben oder allgemein proteolytische Aktivitäten registriert. Selbst wenn in Einzelfällen lysosomale Proteinase gemessen wurden, so war es nie die PMN-Elastase oder das Cathepsin G. Deren proteolytische Potenz in vitro ist wohlbekannt und von ihrer Konzentration her könnten sie am ehesten die ausgedehnten pathologischen Veränderungen bedingen. Bis vor drei Jahren war kein in der klinischen Routine verwendbarer Test erhältlich.

Ob und in welchem Ausmaß proteolytische Aktivitätssteigerungen aus transfundierten Blutkonserven stammen, wurde unter dieser Fragestellung bisher nicht erforscht. HARKE und LAUTERJUNG haben in ihren Arbeiten die Alterung von Blutkonserven und die Pathophysiologie bei Massivtransfusionen untersucht, jedoch lag dem eine andere Fragestellung zugrunde (HARK82; LAUT83). Der Zusammenhang zwischen erhöhter proteolytischer Aktivität und den meist in großen Mengen übertragenen Blutkonserven bleibt bis heute ungeklärt.

4.6 Bedeutung der PMN-Proteinasen und ihrer Inhibitoren

Obwohl heute viel über Proteinasen und ihre biologische Bedeutung bekannt ist, bleiben viele begründete Zweifel über ihre Wirkungen beim traumatisch-hämorrhagischen Schock bestehen.

Den lysosomalen Proteinasen stehen wirksame Inhibitoren innerhalb der Zellen und im Plasma gegenüber, wobei die intracellulären Inhibitoren mengenmäßig nicht ausreichen sollen, die gesamten PMN-Proteinasen zu inaktivieren (BLÖM79; s.a.Kap.3.3.1, 3.3.6). Jenen stehen jedoch die extracellulären Inhibitoren zur Seite, bei denen LAMY nachweisen konnte, daß der α_1 -PI zwar in den ersten Minuten nach einem OP-Trauma abfällt, dann jedoch kontinuierlich ansteigt und sogar an den Ort der Verletzung wandern soll, um die proteolytischen Aktivitäten zu bremsen (LAMY78). Die Autorin führt diesen initialen Abfall im peripheren Plasma eben gerade auf dieses Wandern zum Verletzungsort zurück.

Ob unter solchen Bedingungen genug PMN-Elastase ungebunden und somit systemisch wirksam bleibt, erscheint fraglich. Es konnte bisher nicht nachgewiesen werden, daß die lysosomalen Proteinasen die gesteigerte proteolytische Aktivität des Plasmas verursachen.

Eher wahrscheinlich ist eine lokale Anreicherung freier PMN-Elastase, die sich im Lungenspülwasser nachweisen läßt (OHLS84). BAUM et al. vermuten bei massiver Elastaseausschüttung ein gestörtes α_1 -PI : α_2 -M Verhältnis und dadurch bedingte lokale Schädigung niedermolekularer Proteine und des Elastinaufbaus (BAUM81).

Ungelöst bleibt das Problem, lokale Wirkungen von systemischen zu trennen. Durch alle bisher bekannten Meßmethoden gelingt eben nur die Bestimmung von Konzentrationen im Plasma. Daraus lassen sich nur vage Hinweise auf die tatsächlichen Vorgänge am Ort der Freisetzung - wenn sie denn geschieht - ableiten. Eine freie Elastase könnte beachtliche Strukturzerstörungen verursachen, bevor sie gebunden wird und dann als inaktivierter Elastase-Inhibitor Komplex erscheint. Da die Messungen erst einige Zeit nach dem Trauma beginnen können, andererseits die pathologischen Veränderungen sich schnell entwickeln und die eventuell freige-wordene PMN-Elastase rasch gebunden wird, lassen sich aufgrund der methodischen Probleme die Zusammenhänge in klinischen Studien nur sehr schwer beweisen. Um die Ergebnisse verschiedener Studien vergleichen zu können, sollte man ein verbindliche Traumadefinition einführen und zur Grundlage weiterer Arbeiten machen.

Der Angelpunkt des gesamten Problems bleibt das geringe gesicherte Wissen über Ursache, Art und Weise der Proteinaseaus-schüttung beim traumatisch-hämorrhagischen Schock. Da entsprechende Tests jetzt entwickelt wurden und verfügbar sind, sollten weitere Studien unbedingt die kontinuierliche Messung der PMN-Proteinasen möglichst bald nach Eintritt eines traumatisch-hämorrhagischen Schocks vornehmen. Die Beobachtungsdauer muß mehrere Tage betragen, zumindest bis zu einer eventuellen Normalisierung der Plasmaenzymspiegel. Wenn sich dabei Änderungen der plasmatischen Konzentrationen ergeben, sollte eine mögliche Beziehung zur Schwere eines Traumas untersucht werden.

Die seit etwa 15 Jahren immer wieder versuchte Inhibitortherapie hat bis heute nicht überzeugen können. Der einzige therapeutisch eingesetzte Proteinaseinhibitor - das Aprotinin - wirkt eben gerade nicht auf die PMN-Proteinasen. Es gelang in den veröffentlichten Arbeiten nicht, die vermuteten Grundlagen einer Inhibitortherapie beim traumatisch-hämorrhagischen Schock zu bestätigen. Ob dieser Inhibitor andere möglicherweise schädigende Stoffwechselvorgänge - z.B. die Entstehung von Fibrinspaltprodukten (FSP) - positiv beeinflusst, muß erst noch geklärt werden.

Die sich bildenden FSP werden als Indiz für ablaufende proteolytische Vorgänge aufgefaßt (VAAG80; AASE82). Ob ein Zusammenhang zwischen den systemisch gewonnenen Meßergebnissen und den lokalen Veränderungen besteht, ist unbekannt. Aprotinin wirkt der Plasminaktivität entgegen und könnte so die Menge der entstehenden FSP verringern. Die bekannten Daten lassen jedoch keine Ansatzpunkte für eine erfolgreiche Inhibitortherapie erkennen.

Die Möglichkeiten einer Therapie mit körpereigenen Inhibitoren, hier besonders mit α_1 -PI und α_2 -M, konnten bis heute nicht untersucht werden, da ausreichende Mengen der Stoffe nicht zur Verfügung stehen. Die immensen Kosten eines solchen Therapieversuches könnten erst durch die Synthese dieser Proteinaseinhibitoren gesenkt werden. Die Gentechnologie mag in der Zukunft neue Möglichkeiten schaffen.

Ein weiteres entscheidendes Problem bleibt auch heute noch die Dauer vom Eintritt des Schockereignisses bis zum Beginn einer

suffizienten Therapie. Eine Proteinaseinhibition scheint nur bei schnellstmöglicher Gabe - innerhalb von Minuten ! - effektiv zu sein, da sich rasch nachweisbare pathologische Veränderungen, besonders in der Lunge, ergeben. Fraglich bleibt somit, ob überhaupt die praktischen Voraussetzungen für die wirksame Inhibitortherapie bestehen oder geschaffen werden können.

Welche Schlüsse kann man ziehen?

1. Es ist bisher nicht gesichert, daß bei jedem traumatisch-hämorrhagischen Schock lysosomale Enzyme freigesetzt werden; auch konnte die eventuelle Relation zur Traumaschwere nicht geklärt werden.

2. Ob diese Proteinase im menschlichen Organismus Schaden verursachen, konnte nicht eindeutig gezeigt werden. Wenn diese Annahme stimmt, ist dennoch der Wert einer inhibitorischen Therapie aus den angeführten Gründen fraglich.

3. Die Wirkung von Aprotinin auf die PMN-Proteinase konnte nicht gesichert werden. Der behauptete therapeutische Nutzen beim traumatisch-hämorrhagischen Schock bleibt umstritten und konnte nicht zweifelsfrei bestätigt werden. Eher noch kommt der nachgewiesenen Plasmininhibition durch Aprotinin eine Bedeutung zu, da so die Bildung möglicherweise pathologischer FSP vermindert wird. Die Hemmwirkung auf das Plasmakallikrein ist bekannt.

Leider lassen sich die positiven Effekte des Aprotinins bis heute nicht zu bestimmten humoralen Stoffen in Beziehung setzen. Der

Ort und Mechanismus jener Wirkungen konnte nicht aufgeklärt werden. In seltenen Fällen können durch die Anwendung zusätzliche Gesundheitsschaden auftreten.

Eine Inhibitortherapie mit körpereigenen Inhibitoren kann zumindest derzeit nicht verwirklicht werden, da diese Stoffe nicht in ausreichenden Mengen erhältlich und viel zu teuer sind.

Zusammenfassung

1. Es bleibt bis heute ungesichert, ob und ggf. wie PMN-Proteinasen beim traumatisch-hämorrhagischen Schock freigesetzt werden und welche Rolle sie dann bei der Schockkrankheit spielen.
2. Von den vielen untersuchten Inhibitoren wird bis jetzt nur ein einziger - Aprotinin - therapeutisch verwendet, der die PMN-Proteinasen praktisch nicht beeinflußt und dessen Wirkungsweise unklar ist.
3. Eine aus theoretischen Überlegungen heraus begründete Inhibitortherapie mit körpereigenen Stoffen scheitert an Mengen- und Kostenproblemen.
4. Weitere Forschungen sollten die Rolle der intracellulären Proteinaseinhibitoren aufklären.

5. Künftige Untersuchungen müssen kontinuierlich die PMN-Proteinasenkonzentrationen über einen längeren Zeitraum post trauma messen. Korrelationen mit einer vorher definierten Traumaschwere könnten vielleicht gefunden werden.

6. Über freie PMN-Proteinasen und deren Bedeutung beim traumatisch-hämorrhagischen Schock gibt es keine Studien, obwohl jene am ehesten Schaden verursachen könnten.

Dieses Verzeichnis verwendet eine neue, didaktisch verbesserte Systematik. Die ersten vier Buchstaben des Autorennamens und die letzten beiden Ziffern des Erscheinungsjahres identifizieren das Zitat im Text. Mehrere Zitate des selben Autors im selben Jahr unterscheiden sich durch nachgestellte Kleinbuchstaben (a,b,c...).

- AASF83 Aasen, A.O.; Kierulf, P.; Vaage, J.; Godal, H.C.; Aune, S.:
"Determination of components of the plasma proteolytic enzyme systems gives information of prognostic value in patients with multiple trauma."
Centr.Lab.Surg.Dep. Ulleval University Hospital,Oslo,Norway
- ABIL67 Abilgaard, U.:
"Purification of two progressive antithrombins of human plasma."
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 19:190 (1967).
- ABIL68 Abilgaard, U.:
"Inhibition of the thrombin-fibrinogen reaction by heparin and purified cofactor."
Scand. J. Haematol. 5:440 (1968).
- ABRA81 Abrams, W.; Cohen, A.B.; Damiano, V.; Elirez, A.; Kimbel, P.:
"A model of decreased functional α_1 -proteinase inhibitor. Pulmonary pathology of dogs exposed to chloramine T."
J. Clin. Invest. 68:1132 (1981).
- AHNE62 Ahnefeld, F.W.; Allgöwer, M.:
"Der Schock: Entstehung, Verlauf und Therapie."
Dtsch. med. Wschr. 87:425 (1962).
- ALBR83 Albrecht, G.J.; Hochstrasser, K.; Salier, J.P.:
"Elastase inhibition by the inter-alpha-trypsin inhibitor and derived inhibitors of man and cattle."
Hoppe Seylers Z Physiol Chem, 364:1703 (1983).
- ALL171 Allison, A.C.; Davies, P.; DePetris, S.:
"Role of contractile microfilaments in macrophage movement and endocytosis."
Nature New Biol. 232:153 (1971).

- AL TM73 Altman, L.C.; Snyderman, R.; Oppenheim, J.J.; Mergenhagen, S.:
"A human mononuclear leucocyte chemotactic factor:
Characterization, specificity and kinetics of production by
homologous leucocytes."
J. Immunol. 110:801 (1973).
- ANDE65 Anderer, F.A.; Hornle, S.:
"Strukturuntersuchungen vom Kallikrein-Inaktivator aus
Rinderlunge. 1."
Z. Naturforsch. 20b:457 (1965).
- AOKI79 Aoki, N.; Saito, H.; Kamiya, T.; Koie, K.; Sakata, Y.:
"Congenital deficiency of alpha₂-plasmin inhibitor associated
with severe hemorrhagic tendency."
J. Clin. Invest. 63:877 (1979).
- AOKI80 Aoki, N.; Sakata, Y.; Matsuda, M.; Tatero, K.:
"Fibrinolytic states in a patient with congenital deficiency
of alpha₂-plasmin inhibitor."
Blood 55:483 (1980).
- ARAK79a Araki, H.; Lefer, A.M.:
"Protective action of 6-keto-prostaglandin E₁ in traumatic
shock."
Prostaglandins Med. 2:277 (1979).
- ARAK79b Araki, H.; Lefer, A.M.:
"Protective action of aprotinin in acute traumatic shock."
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 241:316 (1979).
- ASHE77 Ashe, B.M.; Zimmerman, M.:
"Specific inhibition of human granulocyte elastase by
cis-unsaturated fatty acids and activation by the
corresponding alcohols."
Biochem. Biophys. Res. Commun. 75:194 (1977).
- AUER79 Auer, L.:
"Brain protease activity after experimental head injury."
J. Neurosurg. Sci. 23:23 (1979).
- AVIK74 Avikainen, V.; Eklund, B.:
"Disseminated intravascular coagulation after inhibition of
fibrinolysis with tranexamic acid (AMCA) and proteinase
inhibitor Trasylol^R in experimental traumatic and hemorrhagic
shock."
Ann. Chir. Gynaecol. 63:226 (1974).

- BACK66 Back, N.; Wilkens, H.; Steger, R.:
"Fibrinolysis and vasoactive peptides in anaphylaxis."
In: Erdős, N. (ed): Hypotensive peptides; Springer, New York:485
(1966).
- BACK68 Back, N.; Wilkens, H.; Steger, R.:
"Proteinases and proteinase inhibitors in experimental shock
states."
Ann. N.Y. Acad. Sci. 146:491 (1968).
- BAIC84 Baici, A.; Camus, A.; Marsich, M.:
"Interaction of the human leucocyte proteinases elastase and
cathepsin G with gold, silver and copper compounds."
Biochem. Pharmacol. 33:1859 (1984).
- BAIN73 Bainton, D.F.:
"Sequential degranulation of two types of polymorphnuclear
leucocyte granules during phagocytosis of microorganisms."
J. Cell. Biol. 58:249 (1973).
- BALD33 Baldridge, C.W.; Gerard, R.W.:
"The extra respiration of phagocytosis."
Am. J. Physiol. 103:235 (1933).
- BANG49 Banga, I.; Balo, J.:
"Elastase and elastase inhibitor."
Nature 164:491 (1949).
- BARA73 Baranky, T.; Horpascy, G.; Nagy, S.; Szabo, I.:
"Wirkung von Trasylol^R auf Plasmaenzyme und -metaboliten nach
Reinfusion von Blut im hämorrhagischen Schock."
Neue Aspekte der Trasyloltherapie 6:227 (1973).
- BARR71 Barrett, A.J.; Dingle, J.T.:
"Terminology of the tissue proteinases."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Tissue Proteinases; North
Holland, Amsterdam:9 (1971).
- BARR73 Barrett, A.J.; Starkey, P.M.:
"The interaction of α_2 -macroglobulin with proteinases.
Characteristics and specificity of the reaction, and a
hypothesis concerning its molecular mechanism."
Biochem. J. 133:709 (1973).

- BARR75 Barrett, A.J.:
"Lysosomal and related proteinases."
In: Reich, E., Rifkin, D.B., Shaw, E. (eds): Proteases and
Biological Control; Cold Spring Harbor:467 (1975).
- BARR77 Barrett, A.J.:
"Introduction to the history and classification of tissue
proteinases."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Proteinases in Mammalian
Cells and Tissues; North Holland, Amsterdam:1 (1977).
- BARR78 Barrett, A.J.:
"The possible role of neutrophil proteinases in damage to
articular cartilage."
Agents Actions 8:11 (1978).
- BARR80a Barrett, A.J.; Saklatvala, J.:
"Proteinases in joint disease."
In Barrett (ed): Textbook of rheumatology;
Saunders, Philadelphia:195 (1980).
- BARR80b Barrett, A.J.:
"Proteinase inhibitors: Potential drugs?"
In: Sandler, M. (ed): Enzyme Inhibitors as Drugs; The Macmillan
Press, London:219 (1980).
- BARR80c Barrett, A.J.; McDonald, J.K.:
"Mammalian proteases. Vol. 1:Endopeptidases"
Academic Press, New York (1980).
- BARR81a Barrett, A.J.:
"Leucocyte elastase."
Methods Enzymology 80:581 (1981).
- BARR81b Barrett, A.J.:
"alpha₂-macroglobulin."
Methods Enzymol. 80:737 (1981).
- BAUM81 Baum, H.; Smith, S.:
"Anti-Proteases."
in: Cumming, G.; Bonsignore, G.(eds): 'Cellular Biology of the
Lung'; Plenum Press, New York :255 (1981).

- BAYL02 Bayliss, W.M.; Starling, E.H.:
"The mechanism of pancreatic secretion."
J. Physiol 28:325 (1902).
- BLAT80 Beatty, K.; Bieth, J.G.; Travis, J.:
"Kinetics of association of serine proteinases with native and
oxidized α_1 -proteinase inhibitor and
 α_1 -antichymotrypsin."
J. Biol. Chem. 255:3931 (1980).
- BEAT82a Beatty, K.; Robertie, P.; Senior, R.M.; Travis, J.:
"Determination of oxidized α_1 -proteinase inhibitor in
serum."
J. Lab. Clin. Med. 100:186 (1982).
- BEAT82b Beatty, K.G.; Travis, J.; Bieth, J.:
"The effect of α_2 -macroglobulin on the interaction of
 α_1 -proteinase inhibitor with porcine trypsin."
Biochim. Biophys. Acta 704:221 (1982).
- BLND66 Bender, M.L.; Begue-Canton, M.L.; Blakeley, R.L.:
"The determination of the concentration of hydrolytic enzyme
solution: α -chymotrypsin, trypsin, papain, elastase,
subtilisin and acetylcholinesterase."
J. Am. Chem. Soc. 88:5890 (1966).
- BENU75 Benuck, M.; Marks, N.; Hashim, G.:
"Metabolic instability of myelin proteins."
Eur. J. Biochem. 52:615 (1975).
- BENZ82 Benzer, H.; Frey, R.; Hagen, W.; Mayrhofer, O.:
"Der Schock."
Anästh. Intensivmed. 5:925 (1982).
- BERG61a Bergentz, S.-E.; Nilsson, I.M.:
"Effect of trauma on coagulation and fibrinolysis in dogs."
Acta Chir. Scand. 122:21 (1961).
- BERG61b Bergentz, S.-E.:
"Studies on the genesis of posttraumatic fat embolism."
Acta chir. scand., Suppl. 282 (1961).

- BERM75 Berman, M.:
"Collagenase inhibitors: Rationale for their use in treating corneal ulceration."
Int. Ophthalmol. Clinics 15/4:49 (1975).
- BEUC63 Beuchelt, H.:
"Trasyol, ein Proteinase-Inhibitor, in Experiment und klinischer Anwendung."
Med. Chem. 7:763 (1963).
- BIET78 Bieth, J.G.:
"Elastases: Structure, Function and Pathological Role."
Front. Matrix Biol. 6:1 (1978).
- BIET80 Bieth, J.G.:
"Natural and synthetic inhibitors of pancreatic and leucocyte elastases."
Front. Matrix Biol. 8:216 (1980).
- BIRD78 Bird, J.W.C.; Spanier, A.M.; Schwartz, W.N.:
"Cathepsins B and D: Proteolytic activity and ultrastructural localization in skeletal muscle"
In: Segal, H., Doyle, D. (eds): Protein turnover and lysosome function; Academic Press, New York:589 (1978).
- BITE63 Bitensky, C.; Chayer, J.; Cunningham, G.J.; Fine, J.:
"Behavior of lysosomes in hemorrhagic shock."
Nature 199:493 (1963).
- BLAC76 Black, D.V.; Gregoriadis, G.:
"Interaction of liposomes with blood plasma proteins."
Biochem. Soc. Trans. 4:253 (1976).
- BLAI77 Blaisdell, F.W.; Lewis, R.F.:
"Respiratory distress syndrome of shock and trauma: Posttraumatic respiratory failure."
Major Probl. Clin. Surg. 21:1 (1977).
- BLAK78 Blake, M.S.; Swanson, J.:
"Studies of gonococcus infections. XVI Purification of N.gonorrhoeae immunoglobulin A1 protease. "
Infect. Immunol. 22:358 (1978).

- BLEY71 Bleyl, H.:
"Pathomorphologie und Pathogenese des Atemnotsyndroms."
Verh. Dtsch. Ges. Path. 54:39 und 55:340 (1970/71).
- BLÜM66 Blümel, G.:
"Über die Freisetzung von biologisch aktiven Peptiden im Schock."
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 316:964 (1966).
- BLÜM79 Blümel, G.; Schlag, G.; Wendt, P.; Fritsche, H.-M.; Schmeller, M.-L.:
"Das lysosomale Enzymspektrum und Proteinaseinhibitoren menschlicher Leukozyten."
Intensivmed. Notfallmed. Anästhes. 16:69 (1979).
- BORT81 Borth, W.; Menzel, E.J.; Salzer, M.; Stefren, C.:
"Human serum inhibitors of collagenase as revealed by preparative isoelectric focussing."
Clin. Chim. Acta 177:219 (1981).
- BOUD84 Boudier, Ch.; Laurent, Ph.; Bieth, J.G.:
"Leukoproteinasen and Pulmonary Emphysema: Cathepsin G and Other Chymotrypsin-Like Proteinases Enhance the Elastolytic Activity of Elastase on Lung Elastin."
In: Hörl, W.H.; Heidland, A. (eds): Proteases, Plenum Press, New York:313 (1984).
- BOWM44 Bowman, D.E.:
"Fractions derived from soy beans and navy beans which retard tryptic digestion of casein."
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57:139 (1944).
- BÖLT72 Böltig, M.:
"Herzmuskelnekrosen beim endotoxischen und traumatischen Schock."
Diss. med. dent. Freiburg/Br. (1972).
- BRET74 Bretz, U.; Baggiolini, M.:
"Biochemical and morphological characterization of azurophil and specific granules of human neutrophilic polymorphnuclear leucocytes."
J. Cell. Biol. 63:251 (1974).
- BRIE81 Briem, A.; Chmelicek, F.; Weissenhofer, W.:
"Akute respiratorische Insuffizienz."
Wiener Med. Wschr. 7:175 (1981).

- BROS74 Brostoff, S.W.; Reuter, W.; Hichens, M.; Eylar, E.H.:
"Specific cleavage of the α_1 -protein from myelin with
Cathepsin D."
J. Biol. Chem. 249:559 (1974).
- BROW54 Brown, R.K.; Baker, W.H.; Peterkofsky, A.; Kauffman, D.L.:
"Crystallization and properties of a glycoprotein isolated
from human plasma."
J. Am. Chem. Soc. 76:4244 (1954).
- BROW75 Brown, S.I.:
"Clinical aspects, experimental proof of proteolytic
activities in corneal pathology (without therapy)."
Arch. Ophthal. 35:91 (1975).
- BUCH62 Buchborn, E.:
"Stoffwechselveränderungen im Schock und ihre Bedeutung für
die Schockbehandlung."
Internist 3:522 (1962).
- BUND59 Bundy, H.F.; Mehl, J.W.:
"Trypsin inhibitors of human serum. 11. Isolation of the
 α_1 -inhibitor and its partial characterization."
J. Biol. Chem. 234:1124 (1959).
- BURC74 Burchardi, H.:
"Zur Problematik der Lunge im Schock."
Med. Welt 25:598 (1974).
- BURC84 Burchardi, H.; Stokke, T.; Hensel, I.; Kosterling, H.:
"Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS): Experimental
Models with Elastase and Thrombin Infusion in Pigs."
In: Hörl, W.H.; Heidland, A. (eds): Proteases, Plenum Press, New
York:319 (1984).
- BURK64 Burke, J.S.; Uriuhara, T.; Macmorine, D.R.L.; Mavat, H.Z.:
"Permeability factor released from phagocytosing
PMN-leucocytes and its inhibition by protease inhibitors."
Life Sci. 3:1505 (1964).
- CAEN74 Caen, A. de; Gertler, A.:
"Isolation and aminoterminal sequence analysis of two
dissimilar pancreatic proelastases from the african lungfish
protpt. aethio. ."
Biochemistry 13:2673 (1974).

- CAMM78 Cammer, W.; Bloom, B.R.; Norton, W.T.; Gordon, S.:
"Degradation of basic protein in myelin by neutral proteases
secreted by stimulated macrophages: A possible mechanism of
inflammatory demyelination."
Proc. Nat. Acad. Sci. 75:1554 (1978).
- CAMU97 Camus, L.; Gley, E.:
"Action du serum sanguin sur quelques ferments digestifs."
C. R. Soc. Biol. 49:8 (1897).
- CARP79 Carp, H.; Janoff, A.:
"In vitro suppression of serum elastase-inhibitory capacity by
reactive oxygen species generated by phagocytosing
polymorphnuclear leucocytes."
J. Clin. Invest. 63:793 (1979).
- CARR81 Carrell, R.W.; Jeppson, J.O.; Vaughan, L.; Brennan, S.O.:
"Human α_1 -antitrypsin: Carbohydrate attachment and
sequence homology."
FEBS Lett. 135:301 (1981).
- CARR82 Carrell, R.W.; Jeppson, J.O.; Laurell, C.B.; Brennan, S.O.:
"Structure and variation of human α_1 -antitrypsin."
Nature 298:329 (1982).
- CAST68 Castellino, F.J.; Barker, R.:
"Examination of the dissociation of multichaine proteins in
guanidine hydrochloride by membrane osmometry."
Biochem. 7:2207 (1968).
- CHAU64 Chauvet, J.; Nouvel, G.; Archer, R.:
"Structure primaire d'un inhibiteur pancreatique de la
trypsin."
Biochim. Biophys. Acta 92:200 (1964).
- CHAW78 Chawla, R.K.; Wadsworth, A.A.; Rudman, D.:
"Relation of the urinary cancer-related glycoprotein EDC1 to
plasma inter-alpha-trypsin inhibitor."
J. Immunol. 121:1636 (1978).
- CHIA96 Chiari, H.:
"Über Selbstverdauung des menschlichen Pankreas."
Z. Heilk. 17:69 (1896).

- COCH59 Cochrane, C.G.; Weigle, W.O.; Dixon, F.J.:
"The role of polymorphnuclear leucocytes in the initiation and
cessation of the Arthus vasculitis."
J. Exp. Med. 110:481 (1959).
- COCH77 Cochrane, C.G.:
"Role of granulocytes in immuncomplex induced tissue
injuries."
Inflammation 2:319 (1977).
- COHN60 Lohm, Z.A.; Hirsch, J.G.:
"The influence of phagocytosis on the intracellular
distribution of granule-associated components of
polymorphnuclear leucocytes."
J. Exp. Med. 112:1015 (1960).
- COLL79 Collen, D.:
"alpha₂-antiplasmin inhibitor deficiency."
Lancet 1979/I:1039 (1979).
- COOK68 Cook, W.H.; Webb, W.R.:
"Pulmonary changes in hemorrhagic shock."
Surgery 64:85 (1968).
- COOP80 Cooper, J.D.; McDonald, W.D.; Ali, M.; Menkes, E.; Masterson, J.:
"Prostaglandin production associated with the pulmonary
vascular response to complement activation."
Surgery 88:215 (1980).
- CRAD72 Craddock, C.G.:
"Granulocyte kinetics."
In: Williams, N. (ed): Hematology; McGraw Hill, New York:593
(1972).
- DAVI78 Davies, M.; Barrett, A.J.; Travis, J.; Sanders, J.; Coles, G.:
"The degradation of human glomerular basement membrane with
purified lysosomal proteinases: Evidence for the pathogenic
role of polymorphnuclear leucocytes in glomerulonephritis."
Clin. Sci. Molec. Med. 54:233 (1978).
- DEIS74 Deisenhofer, J.; Steigemann, W.:
"The model of the basic pancreatic trypsin inhibitor refined
at 1.5A resolution."
In: Fritz, H., Tschesche, H (eds): Proteinase Inhibitors;
Springer, Berlin:484 (1974).

- DEML80 Demling, R.H.; Proctor, R.; Nguyen, D.; Starling, J.R.:
"Lung lysosomal enzyme release during hemorrhagic shock and
endotoxemia."
J. Surg. Res. 28:269 (1980).
- DESH72 DeShazo, C.V.; Henson, P.M.; Cochrane, C.G.:
"Acute immunologic arthritis in rabbits."
J. Clin. Invest. 51:50 (1972).
- DESP39 Despainsmith, L.; Lindsley, C.H.:
"Inhibition of proteinases of certain Clostridia by serum."
J. Bact. 38:221 (1939).
- DEWA75 Dewald, B.; Rinder-Ludwig, R.; Bretz, U.; Baggiolini, M.:
"Subcellular localization and heterogeneity of neutral
proteases in neutrophilic polymorphnuclear leucocytes."
J. Exp. Med. 141:709 (1975).
- DIMI76 Dimicoli, J.L.; Bieth, J.; Lhoste, J.M.:
"Trifluoro-acetylated peptides as substrates and inhibitors of
elastase. A nuclear magnetic resonance study."
Biochem. 15:2230 (1976).
- DING71 Dingle, J.T.; Barrett, A.J.; Weston, P.D.:
"Cathepsin D. Immunoinhibition by specific antisera."
Biochem. J. 123:1 (1971).
- DING72 Dingle, J.T.; Barrett, A.J.; Poole, A.R.; Stovin, P.:
"The immunocytochemical demonstration of cathepsin D."
Biochem. J., 127:443 (1972).
- DING73 Dingle, J.T.; Poole, A.R.; Lazarus, G.S.; Barrett, A.J.:
"Immunoinhibition of intracellular protein digestion in
macrophages."
J. Exp. Med. 137:1124 (1973).
- DIRS83 Dirschmid, K.:
"Leberveränderungen beim Schock - Histologie."
Hefte Unfallheilk. 156:74 (1983).
- DITT78 Dittmar, K.J.; Moelling, K.:
"Biochemical properties of P-15-associated protease in an
avian RNA tumor virus."
J. Virol., 28:106 (1978).

- DRES72 Dresden, M.H.; Asch, H.L. :
"Proteolytic enzymes in extracts of 'Schistosoma mansoni cercariae'."
Biochim. Biophys. Acta, 289:378 (1972).
- DUCK71 Duck, H.J.; Ebeling, K.; Wagner, J.:
"Die Hemmkapazität des Serums für proteolytische Enzyme während massiver Hämorrhagien und in der Pathogenese des Schockgeschehens."
Z. Ges. Inn. Med. 26 (Suppl.):147 (1971).
- DUM064 Dumont, A.E.; Weissmann, G.:
"Lymphatic transport of β -glucuronidase during hemorrhagic shock."
Nature, 201:1231 (1964).
- DUSW82 Duswald, K.H.:
"Zur Pathobiochemie der Leukocytinelastase und ausgewählter Plasmaproteine bei Sepsis nach abdominalchirurgischen Eingriffen."
Habil.Schr., München (1982).
- ECKE74 Eckert, P.; Riesner, K.; Doehn, M.:
"Indikationen zur Therapie mit Proteinasehemmern in der Chirurgie."
Med. Welt 25:2154 (1974).
- ERIK64 Eriksson, S.:
"Pulmonary emphysema and α_1 -Antitrypsin deficiency ."
Acta Med. Scand. 175 (1964).
- ERIK65 Eriksson, S.:
"Studies in α_1 - antitrypsin deficiency."
Acta. Med. Scand., Suppl. 432:1 (1965).
- ESUM78 Esumi, H.; Sato, S.; Sugimara, T.; Okasaki, N.:
"Purification and properties of an acid protease from human ascites fluid."
Biochim. Biophys. Acta 523:191 (1978).
- EWAL90 Ewald, A.:
"The histology and chemistry of elastic fibers and connective tissues."
Z. Biol. 26:1 (1890).

- FAGE70 Fagerhole, M.K.; Laurell, C.B.:
"The Pi system-inherited variants of serum
alpha₁-antitrypsin."
Prog. Med. Genet. 7:89 (1970).
- FARB78 Farb, R.M.; Dykes, R.; Lazarus, G.S.:
"Anti-epidermal-cell-surface pemphigus antibody detaches
viable epidermal cells from culture plates by activation of
proteinase."
Proc. Nat. Acad. Sci. 75:459 (1978).
- FERM94 Fermi, C.; Pernossi, L.:
"Über die Enzyme - Vergleichende Studie."
Z. Hyg. 18:83 (1894).
- FERR73 Ferreira, S.H.; Moncada, S.; Vane, J.R.:
"Prostaglandins, aspirin-like drugs and the oedema of
inflammation."
Nature 246:217 (1973).
- FITZ89 Fitz, R.H.:
"Acute pancreatitis. A consideration of pancreatic hemorrhage,
hemorrhagic, suppurative and gangrenous pancreatitis, and of
disseminated fat necrosis."
Med. Rec. 35:197 (1889).
- FLOR73 Florkin, M.; Stotz, E.:
"Enzyme Nomenclatur"
in: Florkin, M.; Stotz, E. (eds): 'Comprehensive Biochemistry';
Elsevier, Amsterdam V.13 (1973).
- FRAN72 Francois, J.; Cambie, E.; Feher, J.; van den Eeckout, E.:
"Penicillamine in the treatment of alkali-burned corneas."
Ophthal. Res. 4:223 (1972).
- FREY30 Frey, E.K.; Bauer, A.; Kraut, H.; Werle, E.; Schultz, F.:
"Über neue Funktionen von Pankreas und Milchdrüsen."
Naturwiss. 17:672 (1930).
- FREY53 Frey, E.K.:
"Zur Therapie der Pankreatitis."
Therapiewoche 4:323 (1953).

- FRIT71 Fritz, H.; Jaumann, E.; Meister, R.; Pasquay, P.; Fink, E.:
"Proteinase inhibitors from dog submandibular glands.
Isolation, amino acid composition, inhibition spectrum."
In: Fritz, H. (ed): Proc.Int.Res.Conf.on Proteinase Inhibitors,
DeGruyter, Berlin:25/ (1971).
- FUSS80 Fussi, F.:
"Aprotinin: Mechanism of action and therapeutical uses."
Boll. Chim. Farm. 119:631 (1980).
- GAFF80 Gaffar, S.A.; Princler, G.L.; McIntire, K.R.; Braatz, J.:
"A human lung tumor-associated antigen cross-reactive with
alpha₁-antichymotrypsin."
J. Biol. Chem. 255:8334 (1980).
- GALD79 Goldston, M.; Levytska, V.; Liener, I.E.; Twumasi, D.Y.:
"Degradation of elastin and tropoelastin substrates by human
neutrophil elastase free and bound to alpha₂-macroglobulin in
serum of the M and Z (Pi) phenotypes for alpha₁-antitrypsin."
Am. Rev. Resp. Dis. 119:435 (1979).
- GERB74 Gerber, A.Ch.; Carson, J.H.; Hadorn, B.:
"Partial purification and characterization of a
chymotrypsin-like enzyme from human neutrophil leucocytes."
Biochim. Biophys. Acta 364:103 (1974).
- GERT71 Gertler, A.; Trop, M.:
"The elastase-like enzymes from Streptomyces griseus
(pronase). Isolation and partial characterization."
Eur. J. Biochem. 19:90 (1971).
- GOET77 Goetzl, E.J.; Woods, J.M.; Gorman, A.L.:
"Stimulation of human eosinophil and neutrophil
polymorphnuclear leucocyte chemotaxis and random migration by
12-L-hydroxy- 5,8,10,14-licosatetraenoic acid."
J. Clin. Invest. 59:179 (1977).
- GOLD68 Goldring, I.P.; Greenberg, L.; Ratner, I.M.:
"On the production of emphysema in Syrian hamsters by aerosol
inhalation of papain."
Arch. Environ. Health 16:59 (1968).
- GOR181 Goriachev, A.H.; Semchenko, V.V.; Mashinskaia, V.N.; Shnaider, N.K.:
"Blood serum lysosomal enzyme activity in multiple and
combined injuries."
Ortop. Travmatol. Protez. 7:6 (1981).

- GRAM84 Gramse, M.; Havemann, K.; Egbring, R.:
"Alpha₂-plasmin inhibitor inactivation by human granulocyte
elastase."
Adv. Exp. Med. Biol., 167:253 (1984).
- GREE76 Green, K.; Hamberg, M.; Samuelsson, B.:
"The role of prostaglandin endoperoxides and thromboxanes in
platelet aggregation."
Adv. Prostaglandin Thromboxane Res. 1:737 (1976).
- GREE78 Greenbaum, L.M.; Semente, G.; Prakash, A.; Roffman, S.:
"Leucokinins, their pharmacological properties and role in the
pathology of fluid (ascites) accumulation."
Agents Actions 8:80 (1978).
- GROS65 Gross, P. et al.:
"Experimental emphysema. Its production with papain in normal
and silicotic rats."
Arch. Environ. Health 11:50 (1965).
- GÜLZ69 Gülzow, M.:
"Zur therapeutischen Verwendung natürlicher
Proteinase-Inhibitoren."
Z. Inn. Med. 24:785 (1969).
- HAAR72 Harris, F.D.; Krane, S.M.:
"An endopeptidase from rheumatoid synovial tissue culture."
Biochim. Biophys. Acta 258:566 (1972).
- HAHN97 Hahn, M.:
"Zur Kenntnis der Wirkungen des extravasculären Blutes."
Berl. Klin. Wschr. 34:499 (1897).
- HALL81 Hall, P.K.; Nelles, L.P.; Travis, J.; Roberts, R.C.:
"Proteolytic cleavage sites on alpha₂-macroglobulin resulting
in proteinase binding are different for trypsin and
Staphylococcus aureus V-8 proteinase."
Biochem. Biophys. Res. Commun. 100:8 (1981).
- HAM 44 Ham, W.E.; Sandstedt, R.M.:
"A proteolytic inhibiting substance in the extract from
unheated soy bean meal."
J. Biol. Chem. 154:505 (1944).

- HARD68 Hardaway, R.M.:
"Clinical management of shock."
Thomas, Springfield (1968).
- HARP73a Harpel, P.C.:
"Studies on human plasma alpha₂-macroglobulin-enzyme
interaction. Evidence for proteolytic modification of the
subunit chain structure."
J. Exp. Med. 138:508 (1973).
- HARP73b Harpel, P.C.; Mosseson, M.W.:
"Degradation of human fibrinogen by plasma
alpha₂-macroglobulin-enzyme complexes."
J. Clin. Invest. 52:2175 (1973).
- HARP76 Harpel, P.C.; Rosenberg, R.D.:
"alpha₂-macroglobulin and antithrombin-heparin cofactor:
Modulators of hemostatic and inflammatory reactions."
Prog. Hemost. Thromb. 3:145 (1976).
- HARP77 Harpel, P.C.:
"Plasmin inhibitor interactions. The effectiveness of
alpha₂-plasmin inhibitor in the presence of
alpha₂-macroglobulin."
J. Exp. Med. 146:1033 (1977).
- HART60 Hartley, B.S.:
"Proteolytic enzymes."
Ann. Rev. Biochem. 29:45 (1960).
- HART77 Hartman, D.P.; Murphy, R.A.:
"Production and detection of staphylococcal elastase."
Infect. Immunol. 15:59 (1977).
- HAP70 Haupt, H.; Heimburger, N.; Kranz, T.; Schwick, H.:
"Ein Beitrag zur Isolierung und Charakterisierung des C-1
Inaktivators aus Humanplasma."
Eur. J. Biochem. 17:254 (1970).
- HAVE62 Haverback, B.J.; Dyce, B.; Bundy, H.F.; Wirtschafter, S.K.:
"Protein binding of pancreatic proteolytic enzymes."
J. Clin. Invest. 41:972 (1962).

- HAVI 78 Havemann, K.; Janoff, A.:
"Neutral Proteases of Human Polymorphnuclear Leucocytes:
Biochemistry, Physiology and Clinical Significance."
Havemann, K., Janoff, A. (eds); Urban&Schwarzenberg, München
(1978).
- HAYA75 Hayashi, H.:
"The intracellular neutral SH-dependent protease associated
with inflammatory reactions."
Int. Rev. Cytol. 40:101 (1975)~
- HEID65 Heide, K.; Heimburger, N.; Haupt, H.:
"An inter-alpha-trypsin inhibitor of human serum."
Clin. Chim. Acta 11:82 (1965).
- HEIM65 Heimburger, N.; Haupt, H.:
"Characterisierung von alpha₂-X-Glykoprotein als
Chymotrypsin-Inhibitor des Humanplasmas."
Clin. Chim. Acta 12:116 (1965).
- HEIM67 Heimburger, N.:
"On the proteinase inhibitors of human plasma with especial
reference to antithrombin."
Int. Symp. Tiss. Fact. Haemostas. Coagul-Fibrinolysis Fac.1:353
(1967).
- HEIN81 Heine, H.:
"Die initiale Granulocytose der Lunge nach Eintritt eines
Schockereignisses."
Med. Welt 32:1352 (1981).
- HENS63 Hensen, A.; Loeliger, E.A.:
"Antithrombin III and its function in blood coagulation."
Thromb. Diath. Haemorrh., Suppl. 10:1 (1963).
- HENS71a Henson, P.M.:
"The immunologic release of constituents from neutrophil
leucocytes: I. The role of antibody and complement on
nonphagocytosable surfaces or phagocytosable particles."
J. Immunol. 107:1535 (1971).
- HENS71b Henson, P.M.:
"The immunologic release of constituents from neutrophil
leukocytes: II. Mechanism of release during phagocytosis and
adherence to nonphagocytosable surfaces."
J. Immunol. 107:1547 (1971).

- HENS71c Henson, P.M.:
"Interaction of cells with immune complexes: Adherence, release of constituents and tissue injury."
J. Exp. Med. 134:114 (1971).
- HENS73 Henson, P.M.:
"Mechanism of release of granule enzymes from human neutrophils phagocytosing aggregated immunoglobulin."
Arthritis Rheum. 16:208 (1973).
- HILL84 Hiller, E.; Jochem, M.:
"Plasma levels of human granulocytic elastase α_1 -proteinase inhibitor complex in leukemia."
Blut 48:269 (1984).
- HIRS60 Hirsch, J.G.; Cohn, Z.A.; :
"Degranulation of polymorphnuclear leucocytes following phagocytosis of microorganisms."
J. Exp. Med. 112:1005 (1960).
- HOCH77a Hochstrasser, K.; Niebel, J.; Feuth, H.; Lempart, K.:
"Über Abbauprodukte des Inter- α -Trypsininhibitors im Serum. I. Der α_1 -inhibitor als Prekursor des saurestabilen Serum-Trypsin-Plasmin-Inhibitors."
Klin. Wschr. 55:337 (1977).
- HOCH77b Hochstrasser, K.; Niebel, J.; Lempart, K.:
"Über Abbauprodukte des Inter- α -Trypsininhibitors im Serum. II. Saurelabile Derivate des α_1 -inhibitors."
Klin. Wschr. 55:343 (1977).
- HOER82 Hoerl, W.H.; Ganter, C.; Auer, I.O.; Heidland, A.:
"In vitro inhibition of protein catabolism by α_2 -macroglobulin in plasma from a patient with posttraumatic acute renal failure."
Am. J. Nephrol. 2:32 (1982).
- HOPS77 Hopsu-Havu, V.K.; Fraki, J.E.; Jarvinen, M.:
"Proteolytic enzymes in the skin."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Proteinases in Mammalian Cells and Tissues; North Holland, Amsterdam:545 (1977).
- HOWE83 Howell, J.B.; Beck, T.; Bates, B.; Hunter, M.J.:
"Interaction of α_2 -macroglobulin with trypsin, chymotrypsin, plasmin and papain."
Arch. Biochem. Biophys. 221:261 (1983).

- HUD181 Hudig, D.; Haverty, T.; Fulcher, C.; Redelman, D.:
"Inhibition of human natural cytotoxicity by macromolecular
antiproteases."
J. Immunol. 126:1564 (1981).
- HUMP55 Humphrey, J.H.:
"The mechanisms of Arthus reactions. I. The role of
polymorphnuclear leucocytes and other factors in reversed
passive Arthus reactions in rabbits."
Brit. J. Exp. Path. 36:268 (1955).
- HURD81 Hurd, S.S.:
"Distrestious for research: Responses of the lung to injury."
4th Am. Conf. Shock, Marco Island, Florida, USA, June 6 (1981).
- IMBE81 Imber, M.J.; Pizzo, S.V.:
"Clearance and binding of two electrophoretic 'fast' forms of
human α_2 -macroglobulin."
J. Biol. Chem. 256:8134 (1981).
- ISHI77 Ishikawa, I.; Cimason, G.:
"Isolation of Cathepsin D from human leucocytes."
Biochim. Biophys. Acta 480:228 (1977).
- JAC053 Jacobsson, K.:
"Electrophoretic demonstration of two trypsin inhibitors in
human serum."
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5:97 (1953).
- JAC055 Jacobsson, K.:
"Studies on fibrinogen. II. Studies on the trypsin and plasmin
inhibitors in human blood serum."
Scand. J. Clin. Invest. Suppl. 14:66 (1955).
- JAN062 Janoff, A.; Weissmann, G.; Zweifach, B.W.; Thomas, L.:
"Pathogenesis of experimental shock. IV. Studies of lysosomes
in normal and tolerant animals subjected to lethal trauma and
endotoxemia."
J. Exp. Med. 116:451 (1962).
- JAN064 Janoff, A.; Zweifach, B.W.:
"Production of inflammatory changes in microcirculation by
cationic proteins extracted from lysosomes."
J. Exp. Med. 120:747 (1964).

- JAN068a Janoff, A.; Scherer, J.:
"Mediators of inflammation in leucocyte lysosomes. IX.
Elastinolytic activity in granules of human polymorphnuclear
leucocytes."
J. Exp. Med. 128:1137 (1968).
- JAN068b Janoff, A.; Zeligs, J.D.:
"Vascular injury and lysis of basement membrane in vitro by
neutral protease of human leucocyte."
Science 161:702 (1968).
- JAN073 Janoff, A.:
"Purification of human granulocyte elastase by affinity
chromatography."
Lab. Invest. 29:458 (1973).
- JAN075 Janoff, A.:
"At least three human neutrophil lysosomal proteases are
capable of degrading joint connective tissues."
Ann. N.Y. Acad. Sci. 256:402 (1975).
- JAN077a Janoff, A.; Sloan, B.; Weinbaum, G.; Damiano, V.; Sandhaus, R:
"Experimental emphysema induced with purified human neutrophil
elastase: Tissue localization of the installed protease."
Am. Rev. Resp. Dis. 115:461 (1977).
- JAN077b Janoff, A.; Carp, H.:
"Possible mechanisms of emphysema in smokers: cigarette smoke
condensate suppresses protease inhibition in vitro."
Am. Rev. Resp. Dis. 116:65 (1977).
- JAN078 Janoff, A.:
"Granulocyte Elastase: Role in Arthritis and in Pulmonary
Emphysema."
In: Havemann, K., Janoff, A. (eds): Neutral Proteases of Human
Polymorphnuclear Leucocytes; Urban&Schwarzenberg, München:390
(1978).
- JARV76 Jarvinen, M.:
"Purification and properties of two protease inhibitors from
rat skin inhibiting papain and other SH-proteases."
Acta Chem. Scand. B 30:933 (1976).

- JARV79 Jarvinen, M.:
"Purification and some characteristics of two human serum proteins inhibiting papain and other thiol proteases."
FEBS Lett. 108:461 (1979).
- JEPP78 Jeppson, J.O.; Laurell, C.B.; Fagerhol, M.:
"Properties of isolated human α_1 -antitrypsin of Pi types M, S and Z."
Eur. J. Biochem. 83:143 (1978).
- JOCH81 Jochum, M.; Lander, S.; Heimburger, N.; Fritz, H.:
"Effect of human granulocytic elastase on isolated human antithrombin III."
Z. Physiol. Chem. 362:103 (1981).
- JOCH83a Jochum, M.; Duswald, K.H.; Hiller, E.; Fritz, H.:
"Plasma levels of human granulocytic elastase- α_1 -proteinase inhibitor complex (E- α_1 -PI) in patients with septicemia and acute leukemia."
In: Goldberg, D. M., Werner, M. (eds): Selected Topics in Clinical Enzymology, W. DeGruyter, Berlin-New York:25 (1983).
- JOCH83b Jochum, M.; Bittner, A.:
"Inter- α -trypsin inhibitor of human serum: an inhibitor of human polymorphonuclear granulocyte elastase."
Hoppe Seylers Z Physiol Chem, 364:1709 (1983).
- JOHN73 Johnston, M.; Greenbaum, L.M.:
"Leucokinin-forming system in the ascitic fluid of a murine mastocytoma."
Biochem. Pharmacol. 22:1386 (1973).
- JOHN78 Johnson, D.; Travis, J.:
"Structural evidence for methionine at the reaction site of human α_1 -proteinase inhibitor."
J. Biol. Chem. 253:7142 (1978).
- JONA77 Jonadet, M.; Bastide, P.:
"Action d'effecteurs pharmacologiques sur les variations de l'hématocrite et de l'activité lactate déshydrogénasique au cours du choc ischémique expérimental."
Path. Biol. 25:147 (1977).

- KAPL72 Kaplan, A.P.; Kay, A.B.; Austen, K.F.:
"A prealbumin activator of prekallikrein. 3. Appearance of chemotactic activity for human neutrophils by the conversion of human prekallikrein to kallikrein."
J. Exp. Med. 135:81 (1972).
- KAPL73 Kaplan, A.P.; Goetzl, E.J.; Austen, K.F.:
"The fibrinolytic pathway of human plasma. II. The generation by activation of plasminogen proactivator."
J. Clin. Invest. 52:2591 (1973).
- KAZU71 Kazueva, T.V.; Kovrizhnykh, E.E.; Tsinin, Iun.:
"Proteolytic serum activity in traumatic shock."
Vestn. Khir. 106:40 (1971).
- KOKA51 Kokas, E.; Foldes, I.; Banga, I.:
"The elastase and trypsin contents of the pancreatic secretions in dogs."
Acta Physiol. Hung. 2:333 (1951).
- KOLB77 Kulbow, H.; Barthels, M.; Oestern, H.-J.; Sturm, J.; Wannsk, R.:
"Frühveränderungen des Gerinnungssystems beim Polytrauma und seine Beeinflussung durch Heparin und Trasylol^R."
Chir. Forum 119 (1977).
- KOND82 Kondo, Y.; Ohsawa, N.:
"Production of human alpha₁-antichymotrypsin-like protein by a human malignant melanoma transplanted in nude mice."
Cancer Res. 42:1549 (1982).
- KORA75 Korant, B.:
"Regulation of Animal Virus Replication by Protein Cleavage."
In: Reich, E., Rifkin, D.B., Shaw, E. (eds): Proteases and Biological Control; Cold Spring Harbor, New York:621 (1975).
- KRAM84 Kramps, J.A.; v.d.Valk, P.; v.d.Sandt, M.M.; Lindeman, J.:
"Elastase as a marker for neutrophilic myeloid cells."
J. Histochem. Cytochem., 32:389 (1984).
- KRAU60 Kraut, H.; Korbil, W.; Scholtan, W.; Schultz, F.:
"Versuche zur Isolierung des Kallikrein-Inaktivators. III"
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 321:90 (1960).

- KUEH77 Kuehl, E.A.; Humes, J.L.; Egan, R.W.; Ham, E.A.; Beveridge, G.:
"Role of prostaglandin endoperoxide PGG_2 in inflammatory processes."
Nature 265:170 (1977).
- KUEP66 Kueppers, F.; Bearn, A.G.:
"A possible experimental approach to the association of hereditary α_1 -antitrypsin deficiency and pulmonary emphysema."
Proc. Soc. Exp. Biol. 121:1207 (1966).
- KUEP81 Kueppers, F.; Abrams, W.R.; Weinbaum, G.; Rosenbloom, J.:
"Resistance of tropoelastin and elastin peptides to degradation by α_2 -macroglobulin."
Arch. Biochem. Biophys. 211:143 (1981).
- KUNI36 Kunitz, M.; Northrop, J.H.:
"Isolation from beef pancreas of crystalline trypsinogen, trypsin, a trypsin inhibitor and an inhibitor-trypsin compound."
J. Gen. Physiol. 19:991 (1936).
- KURA76 Kurachi, K.; Schmer, G.; Hermondsen, M.A.; Teller, D.C.:
"Characterization of human, bovine and horse antithrombin III."
Biochem. 15:368 (1976).
- KURAB1 Kurachi, K.; Chandra, T.; Degen, S.J.; White, T.T.:
"Cloning and sequence of cDNA coding for α_1 -antitrypsin."
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78:6826 (1981).
- KUSA74 Kusajima, K.; Ozdemir, J.A.; Webb, W.R.; Wax, S.D.; Parker, F.B.:
"Role of serotonin and serotonin antagonist on pulmonary hemodynamics and microcirculation in hemorrhagic shock."
J. Thor. Cardiovasc. Surg. 67:908 (1974).
- KOHN78 Kühne, W.:
"Erfahrungen und Bemerkungen über Enzyme und Fermente."
Unters. Physiol. Inst. Univ. Heidelberg, 1, (1878).
- LAIN81 Iaine, A.; Hayem, A.:
"Purification and characterization of α_1 -antichymotrypsin from human pleural fluid and human serum."
Biochim. Biophys. Acta 668:429 (1981).

- LAMY61 Lamy, F.; Lansing, A.L.:
"Localization of proelastase in the goose fish *Ioph. piscat.*"
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106:160 (1961).
- LAMY78 Lamy, Y.; Ibrahim, S.; Lomanto, C.; Dombrowiecki, A.:
"Sequential changes of α_1 -antitrypsin after surgical
trauma."
Clin. Chim. Acta 89:387 (1978).
- LAND00 Landsteiner, K.:
"Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und
agglutinierenden Wirkung des Blutserums und der Lymphe."
Z. Bakteriol. 27:357 (1900).
- LAUR63 Laurell, C.-B.; Eriksson, S.:
"The electrophoretic α_1 -globulin pattern of serum in
 α_1 -deficiency."
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15:132 (1963).
- LAVI78 Lavie, G.; Zucker-Franklin, E.C.:
"Degradation of serum amyloid A protein by surface- associated
enzymes of human blood monocytes."
J. Exp. Med. 148:1020 (1978).
- LAZA68a Lazarus, G.S.; Daniels, J.R.; Brown, R.S.; Bladen, H.R.; Fullmer, H.M.:
"Degradation of collagen by a human granulocyte collagenolytic
system."
J. Clin. Invest. 47:2622 (1968).
- LAZA68b Lazarus, G.S.; Brown, R.S.; Daniels, J.R.; Fullmer, H.M.:
"Human granulocyte collagenase."
Science 159:1483 (1968).
- LAZA72 Lazarus, G.S.; Daniels, J.R.; Lian, J.; Burleigh, M.C.:
"Role of granulocyte collagenase in collagen degradation."
Am. J. Pathol. 68:565 (1972).
- LAZA73 Lazarus, G.S.:
"Studies of the degradation of collagen by collagenases."
In: Dingle, J.T. (ed): Lysosomes in Biology and Pathology; North
Holland, Amsterdam 3:338 (1973).

- LEBR41 Le Dron, H.F.:
"Traite ou Réflexion Tirées de la Pratique sur les Playes
d'Armes à feu. "
A Amsterdam, Aux depends de la Companie (1741).
- LEE 84 Lee, C.T.; Fein, A.M.; Lippmann, M.; Holtzmann, H.:
"Elastolytic activity in pulmonary lavage fluid from patients
with adult respiratory-distress syndrome."
New Engl. J. Med. 304:192 (1981).
- LEFE70a Lefer, A.M.; Martin, J.:
"Relationship of plasmapeptides to the myocardial depressant
factor in hemorrhagic shock in cats."
Circ. Res. 26:59 (1970).
- LEFE70b Lefer, A.M.; Martin, J.:
"Origin of a myocardial depressant factor in shock."
Am. J. Physiol. 218:1423 (1970).
- LEFE72 Lefer, A.M.; Barenholz, Y.:
"Pancreatic hydrolases and the formation of a myocardial
depressant factor in shock."
Am. J. Physiol. 223:1103 (1972).
- LEFE79a Lefer, A.M.; Araki, H.; Smith, J.B. et al.:
"Protective effects of a novel thromboxane analog in lethal
traumatic shock."
Prostaglandins Med. 3:139 (1979).
- LEFE79b Lefer, A.M.; Sollott, S.L.; Galvin, M.J.:
"Beneficial actions of prostacyclin in traumatic shock."
Prostaglandins Med. 17:761 (1979).
- LEFE81a Lefer, A.M.; Carrow, B.A.:
"Salutary actions of nimopidine in traumatic shock."
Life Sci. 29:1347 (1981).
- LEFE81b Lefer, A.M.; Araki, H.; Okumatsu, S.:
"Beneficial actions of a free radical scavenger in traumatic
shock and myocardial ischemia."
Circ. Shock 8:273 (1981).
- LEFE82 Lefer, A.M.; Messenger, M.:
"Protective actions of nafazatrom in traumatic shock."
Arzn. Forsch. 32:1089 (1982).

- LEHN76 Lennartz, H.; Trobisch, H.; Derra, E. Jr.; Krian, A.; Bruster, H.:
"Die Schocklunge - ein neues Behandlungsprinzip."
Langenbecks Arch. Chir., 342:341 (1976).
- LEVY74 Levy, M.K.; Siddiqui, W.A.; Chou, S.C.:
"Acid protease activity in 'Plasmodium falciparum' and
'P.knowlesi' and ghosts of their respective host-red cells."
Nature, 247:546 (1974).
- LEVY75 Levy, M.R.; Chou, S.C.:
"Inhibition of macromolecular synthesis in the malarial
parasites by inhibitors of proteolytic enzymes."
Experientia 31:52 (1975).
- LEWI56 Lewis, U.J.; Brink, N.G.; Williams, D.E.:
"Pancreatic elastase: Purification, properties and function."
J. Biol. Chem. 222:705 (1956).
- LIBB78 Libby, P.; Goldberg, A.L.:
"Leupeptin, a protease inhibitor, decreases protein
degradation in normal and diseased muscles."
Science 199:534 (1978).
- LIEV74 Lievaart, P.A.; Stevenson, K.J.:
"The isolation of trypsin and elastase from moose pancreas by
affinity chromatography on line-beam protease inhibitor
resin."
Can. J. Biochem. 52:637 (1974).
- LIS083 Lison, A.E.:
"Niere im Schock."
Hefte Unfallheilk. 156:22 (1983).
- LOEB56 Loeb, J.:
"Le cofacteur plasmatique de l'heparine et les rapports avec
l'antithrombine."
Arch. Sci. Physiol. 10:129 (1956).
- LOER76 Loergering, D.J.; Kaplan, J.E.; Saba, T.M.:
"Correlation of plasma lysosomal enzyme levels with hepatic
reticuloendothelial function after trauma."
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 152:42 (1976).

- LOVE71 Lovett, W.L.; Wangenstein, S.L.; Glenn, T.M.; Lefer, A.M.:
"Presence of a myocardial depressant factor in patients in
circulatory shock."
Surgery 70:223 (1971).
- LUTE72 Lutermann, A.; Manwaring, D.; Curreri, P.W.:
"The role of fibrinogen degradation products in the
pathogenesis of the respiratory distress syndrome."
Surgery 82:703 (1972).
- MAND60 Mandl, I.; Cohen, B.B.:
"Bacterial elastase. I. Isolation, purification and
properties."
Arch. Biochem. Biophys. 91:47 (1960).
- MARA60 Marama, P.; Ferrari, C.; Lapicciarella, R.; Agnolucci, M.:
"Effect of elastase in vivo and in vitro on aortic and
pulmonary elastic tissue in the course of a
hypercholesterolemia in chicken."
G. Geront. 8:1161 (1960).
- MARK59 Markwardt, F.; Walsmann, P.:
"Untersuchungen über den Mechanismus der Antithrombinwirkung
des Heparins."
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 317:64 (1959).
- HATS80 Matsuda, M.; Wakabayashi, K.; Aoki, N.; Morioka, Y.:
"alpha₂-plasmininhibitor is among acute phase reactants."
Thromb. Res. 17:527 (1980).
- MCCR75 McCroskery, P.A.; Richard, J.F.; Harris, E.D.Jr.:
"Purification and characterization of a collagenase extracted
from rabbit tumors."
Biochem. J. 152:131 (1975).
- MCCU46 McCutcheon, M.:
"Chemotaxis in leucocytes."
Physiol. Rev. 26:319 (1946).
- MCM182 McMichan, J.; Rosengarten, D.S.; Philipp, E.:
"Prophylaxis of post-traumatic pulmonary insufficiency by
protease-inhibitor therapy with aprotinin."
Circ. Shock 9:107 (1982).

- MEIS83 Meissner, K.:
"Leber und Gallenblase im hypovolämisch-traumatischen Schock."
Hefte Unfallheilk. 156:59 (1983).
- MENK38 Menkin, V.:
"Dynamics in inflammation. An inquiry into the mechanism of
infectious processes." "
J. Exp. Med. 67:129 (1938).
- MESS83 Messmer, K.F.W.:
"Traumatic shock in Polytrauma: Circulatory Parameters,
Biochemistry and Resuscitation."
World J. Surg. 7:26 (1983).
- METC87 Metchnikoff, E.:
"Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion."
Ann Inst Pasteur 1:321 (1887).
- MICH70 Michell, R.H.; Karnovsky, M.J.; Karnovsky, M.L.:
"The distributions of some granule-associated enzymes in
guinea-pig polymorphnuclear leucocytes."
Biochem. J. 116:207 (1970).
- MILL74 Miller-Anderson, M.; Borg, H.; Anderson, L.O.:
"Purification of antithrombin III by affinity chromatography."
Thromb. Res. 5:439 (1974).
- MITT72 Mittman, C.:
"Pulmonary Emphysema and Proteolysis."
Mittman, C. (ed): Academic Press, New York (1972).
- MIYA56 Miyada, D.S.; Tappel, A.L.:
"Hydrolysis of beef proteins."
Food Res. 21:217 (1956).
- MOLL58 Moll, F.C.; Sunden, S.F.; Brown, J.R.:
"Partial purification of the serum trypsin inhibitor."
J. Biol. Chem. 233:121 (1958).
- MOON60 Moon, H.D.; McIvor, B.C.:
"Elastase in the exocrine pancreas. Localization with
fluorescent antibody."
J. Immun. 85:78 (1960).

- MORO76 Moroi, M.; Aoki, N.:
"Isolation and characterization of α_2 -plasmininhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor which inhibits activator induced clot lysis."
J. Biol. Chem. 251:5956 (1976).
- MORT81 Mortensen, S.B.; Sottrup-Jensen, L.; Hansen, H.F.:
"Primary and secondary cleavage sites in the bait region of α_2 -macroglobulin."
FEBS Lett. 135:295 (1981).
- MORL67 Morl, F.K.:
"Die Fettembolie."
Neue Aspekte der Trasyloltherapie, 2:155 (1967).
- MULL74 Mullertz, S.:
"Different molecular forms of plasminogen and plasmin produced by urokinase in human plasma and their relation to protease inhibitors and lysis of fibrinogen and fibrin."
Biochem. J. 143:273 (1974).
- MULL76 Mullertz, S.; Clemmensen, I.:
"The primary inhibitor of plasmin in human plasma."
Biochem. J. 159:545 (1976).
- MURP77 Murphy, G.; Reynolds, J.J.; Bretz, U.; Baggiolini, M.:
"Collagenase is a component of the specific granules of human polymorphnuclear leukocytes."
Biochem. J. 162:195 (1977).
- NACH76 Nachman, R.L.; Harpel, P.C.:
"Platelet α_2 -macroglobulin and α_1 -antitrypsin."
J. Biol. Chem. 251:4513 (1976).
- NART79 Nartikova, N.F.; Paskhina, T.S.:
"A method for estimation of α_1 -antitrypsin and of α_2 -macroglobulin in human blood serum (plasma) in normal state and under some pathological conditions."
Vopr. Med. Khim. 25:494 (1979).
- NAUG61 Naughton, M.A.; Sanger, S.:
"Purification and specificity of pancreatic elastase."
Biochem. J. 78:156 (1961).

- NERL83 Nerlich, A.; Nerlich, M.; Sturm, J. A.; Müller, P. K.; Tscherne, H.:
"Biochemisch feststellbare Veränderungen in der Lunge im
posttraumatisch-respiratorischen Versagen."
Hefte Unfallheilk. 156:39 (1983).
- NEUN81 Neumann, S.; Hennrich, N.; Gunzer, G.; Lang, H.:
"Enzyme-linked immunoassay for elastase from leukocytes in
human plasma."
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19:232 (1981).
- NEUN83 Neumann, S.; Hennrich, N.; Gunzer, G.; Lang, H.:
"Enzyme-linked immunoassay for complexes of human granulocyte
elastase with α_1 -proteinase inhibitor in plasma."
In: Goldberg, D. M., Werner, M. (eds): Progr. Clin. Enzymol. 11;
Masson Publ., New York, in press (1983).
- NEUR82 Neumeier, D.; Fateh-Moghadam, A.; Menzel, G.:
"Zur Methodik einer enzymimmunologischen Bestimmung des
Elastase- α_1 -Proteinase-inhibitor-Komplexes."
Fresenius Z. Anal. Chem. 311:389 (1982).
- NIL E67 Nilen, J.-E.; Garrot, P. O.:
"Plasmin, plasmin inhibitors and degradation products of
fibrinogen in human serum during and after intravenous
infusion of streptokinase."
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 20:113 (1967).
- NORD77 Nordenmann, B.; Nyson, C.; Björk, I.:
"The size and shape of human and bovine antithrombin III."
Eur. J. Biochem. 78:195 (1977).
- OHLS74 Ohlsson, K.; Olsson, I.:
"The neutral proteases of human granulocytes. Isolation and
partial characterization of granulocyte elastases."
Eur. J. Biochem. 42:519 (1974).
- OHLS75 Ohlsson, K.:
"Granulocyte Collagenase and Elastase and Their Interactions
with α_1 -Antitrypsin and α_2 -Macroglobulin."
In: Reich, E., Rifkin, D. B., Shaw, E. (eds): Proteases and
Biological Control; Cold Spring Harbor:591 (1975).
- OHLS76a Ohlsson, K.; Tegner, H.:
"Inhibition of elastase from granulocytes by the low molecular
weight bronchial protease inhibitor."
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36:437 (1976).

- OHLS76b Ohlsson, K.; Laurell, C.B.:
"The disappearance of enzyme-inhibitor complexes from the circulation of man."
Clin. Sci. Mol. Med. 51:87 (1976).
- OHLS77 Ohlsson, K.; Olsson, I.; Spitznagel, J.K. .:
"Localization of chymotrypsin-like cationic proteins, collagenase and elastase in azidophil granules of human neutrophil polymorphnuclear leucocytes."
Hoppe-Seyler's Z. Phys. Chem. 358:361 (1977).
- OHLS78a Ohlsson, K.:
"Purification and properties of granulocyte collagenase and elastase."
[In: Havemann, K., Janoff, A. (eds): Neutral Proteases of Human Polymorphnuclear Leucocytes; Urban&Schwarzenberg, München:89 (1978).
- OHLS78b Ohlsson, K.; Olsson, A.S.:
"Immunoreactive granulocyte elastase in human serum."
Hoppe-Seyler's Z. Phys. Chem. 359:1531 (1978).
- OHLS80 Ohlsson, K.; Fryksmark, U.; Tegner, H.:
"The effect of cigarette smoke condensate on alpha₁-antitrypsin, antileucoprotease and granulocyte elastase."
Eur. J. Clin. Invest. 10:373 (1980).
- OHLS84 Ohlsson, K.; Fryksmark, U.; Ohlsson, M.; Tegner, M.:
"Interaction of granulocyte protease with inhibitors in pulmonary diseases."
Adv. Exp. Med. Biol., 167:299 (1984).
- OLSS72 Olsson, I.; Venge, P.:
"Cationic proteins of human granulocytes. I. Isolation of the cationic proteins from the granules of leukaemic myeloid cells."
Scand. J. Haematol. 9:204 (1972).
- OPTE05 Opie, E.L.:
"Enzymes and antienzymes of inflammatory exsudates."
J. Exp. Med. 7:316 (1905).

- OPIE22 Opie, E.L.:
"Intracellular digestion. The enzymes and antienzymes concerned."
Physiol. Rev. 2:552 (1922).
- ORK165 Orkin, L.R.; :
"Clinical management of the patient in shock."
Blackwell, Oxford (1965).
- OTT071 Otto, K.:
"Cathepsin B1 and B2."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Tissue Proteinases; North Holland, Amsterdam:1 (1971).
- OZAK75 Ozaki, H.; Sihio, I.:
"Purification and properties of elastolytic enzyme from *Flavobact. immotum*."
J. Biochem. 77:171 (1975).
- PANN74 Pannell, R.; Johnson, D.; Travis, J.:
"Isolation and properties of human plasma α_1 -proteinase inhibitor."
Biochem. 13:5439 (1974).
- PAR169 Parish, W.E.:
"Effects of neutrophils on tissues."
Brit. J. Derm. 81:28 (1969).
- PIER76 Pierce, J.; Jeppson, J.O.; Laurell, C.B.:
"alpha₁-antitrypsin phenotypes determined by isoelectric focussing of the cystein-antitrypsin mixed disulfide in serum."
Anal. Biochem. 74:227 (1976).
- PLAU75 Plaut, A.G.; Gilbert, J.V.; Artenstein, M.S.; Capra, J.D.:
"Neisseria gonorrhoeae and N. meningitidis: Extracellular enzyme cleaves human Ig A."
Science, 190:1103 (1975).
- PLOW83 Plow, E.F.; Gramse, M.; Havemann, K.:
"Immunochemical discrimination of leukocyte elastase from plasmic degradation products of fibrinogen."
J. Lab. Clin. Med., 102:858 (1983).

- POOL72 Poole, A.R.; Dingle, J.T.; Barrett, A.J.:
"The immunocytochemical demonstration of cathepsin D."
J. Histochem. Cytochem. 20:261 (1972).
- POOL73 Poole, A.R.; Hembry, R.M.; Dingle, J.T.:
"Extracellular localization of cathepsin D in ossifying
cartilage."
Calc. Tiss. Res. 12:313 (1973).
- POOL74 Poole, A.R.; Hembry, R.M.; Dingle, J.T.:
"Cathepsin D in cartilage: The immunohistochemical
demonstration of extracellular enzyme in normal and
pathological conditions."
J. Cell. Sci. 14:139 (1974).
- RAHM77 Rahmer, H.; Durst, J.; Schubert, G.E.:
"Correlation between local oxygen tension in muscle tissue and
survival time in Tourniquet shock."
Circ. Shock 4:35 (1977).
- RATL71 Ratliff, N.B.; Wilson, J.W.; Mikat, E.; Hackel, D.B.; Graham, T.C.:
"The lung in hemorrhagic shock."
Am. J. Path. :325 (1971).
- RATN57 Ratnoff, O.D.; Lepow, I.H.:
"Some properties of an esterase derived from preparations of
the first component of complement."
J. Exp. Med. 106:327 (1957).
- REAV73 Reaven, E.P.; Axline, S.G.:
"Subplasmalemmal microfilaments and microtubules in resting
and phagocytizing cultivated macrophages."
J. Cell. Biol. 59:12 (1973).
- REDL79 Redl, H.; Schlag, G.; Voigt, W.H.; Schnells, G.; Glatzl, A.:
"Ultrastruktur des akuten progressiven Lungenversagens im
Frühstadium."
Intensivmed. Notfallmed. Anästhes. 16:22 (1979).
- REDL83a Redl, H.; Schlag, G.:
"Celluläre Veränderungen im Schock."
Hefte Unfallheilk. 156:13 (1983).

- REDL83b Redl, H.; Schlag, G.:
"Granulocyten und Lunge im Schock: PMN-Aggregation und
Degranulierung als mögliche Mechanismen der
Endothelschädigung."
Hefte Unfallheilk. 156:483 (1983).
- RELC65 Reich, T.; Dierolf, B.M.; Reynolds, B.M.:
"Plasma cathepsin-like acid proteinase activity during
hemorrhagic shock."
J. Surg. Res. 5:116 (1965).
- REIL80 Reilly, C.F.; Travis, J.:
"The degradation of human lung elastin by neutrophil
proteinases."
Biochim. Biophys. Acta 621:14/ (1980).
- RIED79 Riede, U.N.; Mittermayer, Ch.:
"Pathologisch-anatomische Untersuchungen der Schocklunge. I.
Diagnostik und Abgrenzung der Frühstadien."
Intensivmed. Notfallmed. Anesthes. 16:16 (1979).
- RIFK74 Ritkin, D.B.; Leeb, J.N.; Moore, G.; Reich, E.:
"Properties of plasminogen activators formed by neoplastic
human cell cultures."
J. exp. Med. 139:1317 (1974).
- RIND74 Rindler, R.; Schmalzl, F.; Braunsteiner, H.:
"Isolierung und Charakterisierung der chymotrypsinähnlichen
Protease aus neutrophilen Granulozyten des Menschen."
Schw. Med. Wschr. 104:132 (1974).
- ROBE69 Robert, B.; Robert, L.:
"Determination of elastolytic activity with 125-I and 131-I
labelled elastin."
Eur. J. Biochem. 11:62 (1969).
- ROCH66 Rocha e Silva, M.:
"Release of histamine in anaphylaxis."
In: Eichler, N. (ed): Handbook of Experimental Pharmacology,
Histamines and Antihistamines; Springer, Berlin:431 (1966).
- ROSE73 Rosenberg, R.D.; Damus, P.S.:
"The purification and mechanism of action of human
antithrombin-heparin cofactor."
J. Biol. Chem. 248:6490 (1973).

- RUMS77 Rumsby, M.G.; Crang, A.J.:
"The myelin sheath- a structural examination"
in: Poste, G., Nicholson, G.L. (eds): The synthesis, assembly and turnover of cell surface components; North Holland, Amsterdam:316 (1977).
- RYLE79 Ryley, H.C.:
"Isolation and partial characterization of a thiol proteinase inhibitor from human plasma."
Biochem. Biophys. Res. Comm. 89:871 (1979).
- SALV80 Salvesen, G.S.; Barrett, A.J.:
"Covalent binding of proteinases in their reaction with alpha₂-macroglobulin."
Biochem. J. 187:695 (1980).
- SALV81 Salvesen, G.S.; Sayers, C.A.; Barrett, A.J.:
"Further characterization of the covalent binding reaction of alpha₂-macroglobulin."
Biochem. J. 195:453 (1981).
- SAMU76 Samuelsson, B.; Hamberg, M.; Malmsten, C.; Svensson, J.:
"The role of prostaglandin endoperoxides and thromboxanes in platelet aggregation."
Adv. Prostaglandin Thromboxane Res. 2:737 (1976).
- SAND74 Sandegaard, J.; Nolte, J.; Lewis, D.H.; Seeman, T.:
"Early hemodynamic and biochemical changes in soft tissue trauma."
Eur. Surg. Res. 6:233 (1974).
- SBAR59 Sbarra, A.J.; Karnovsky, M.L.:
"The biochemical basis of phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphnuclear leucocytes."
J. Biol. Chem. 234:1355 (1959).
- SBAR60 Sbarra, A.J.; Gilfillan, R.F.; Bardawil, W.A.:
"Elastase production by Actinomyces."
Fed. Proc. 19:144 (1960).
- SCHL77 Schlag, G.; Redl, H.; Glatzl, A.:
"Morphologische Veränderungen der Lunge im hypovolämischen - traumatischen Schock."
Unfallheilk. 80:315 (1977).

- SCHL82 Schlag, G.; Redl, H.:
"Neue Aspekte zur Schocklunge."
Anästh. Intensivther. Notfallmed., 17:69 (1982).
- SCHL83a Schlag, G.; Krosi, P.; Hallstrom, S.; Redl, H.:
"Herz im Schock."
Hefte Unfallheilk. 156:78 (1983).
- SCHL83b Schlag, G.; Redl, H.:
"Lunge im Schock."
Hefte Unfallheilk. 156:29 (1983).
- SCHM38 Schmitz, A.:
"Über den Trypsin-Inhibitor des Blutes. Dritte Mitteilung zur
Kenntnis des Plasmatrypsinsystems."
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 255:234 (1938).
- SCHM74 Schmidt, W.; Havemann, K.:
"Isolation of elastase-like and chymotrypsin-like neutral
proteases from human granulocytes."
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 365:1077 (1974).
- SCHM78 Schmidt, W.; Havemann, K.:
"Chymotrypsin-like Neutral Proteases from Lysosomes of Human
Polymorphnuclear Leucocytes."
In: Havemann, K., Janoff, A. (eds): Neutral Proteases of Human
Polymorphnuclear Leukocytes; Urban&Schwarzenberg, München:150
(1978).
- SCHN75 Schnebli, H.P.:
"The effects of protease inhibitors on cells in vitro."
In: Reich, E., Rifkin, D.B., Shaw, E. (eds): Proteases and
Biological Control; Cold Spring Harbor:785 (1975).
- SCHN76 Schneider, B.; Schnells, G.; Trentz, O.; Tscherne, H.:
"Feldstudie über den therapeutischen Wert von Trasylol beim
traumatischen Schock."
Chirurg 47:185 (1976).
- SCHU55 Schultze, H.E.; Göllner, I.; Heide, K.; Schönenberger, M.; Schwick, G.:
"Zur Kenntnis der alpha-Globuline des menschlichen Serums."
Z. Naturforsch. 10b:463 (1955).

- SCHU62a Schultze, H.E.; Heide, K.; Haupt, H.:
"alpha₁-Antitrypsin aus Humanserum."
Klin. Wschr. 40:427 (1962).
- SCHU62b Schultze, H.E.; Heide, K.; Haupt, H.:
"Über ein noch nicht beschriebenes alpha₁-Glykoprotein des
menschlichen Serums."
Naturwiss. 49:133 (1962).
- SCHW77 Schwartz, W.N.; Bird, J.W.C.:
"Degradation of myofibrillar protein by cathepsins B and D."
Biochem. J. 167:811 (1977).
- SEFR83 Sefrin, P.; Heine, H.; Henrich, H.; Appel, E.:
"Traumatischer Schock als Auswirkung einer frühzeitigen
Stimulation des sympathiko-adrenergen Systems und seine
Auswirkung auf die Lungenendstrombahn."
Hefte Unfallheilk. 156:44 (1983).
- SEIF70 Seifter, S.; Harper, E.:
"Collagenases"
Methods Enzymol. 19:613 (1970).
- SHAP76 Shapiro, S.Z.; August, J.T.:
"Proteolytic cleavage events in oncornavirus protein
synthesis."
Biochem. Biophys. Acta 458:375 (1976).
- SHER61 Sherry, S.:
"Hemostatic mechanisms and proteolysis in shock."
Fed. Proc. 20:209 (1961).
- SHER69 Sherry, S., Brinkhous, K.M.; Genton, E.; Stengle, J.M. (eds):
"Thrombosis "
Nat. Acad. Sci.; Nat. Acad. Sci. Washington Publ. 1706, (1969).
- SHIR75 Shirahama, T.; Cohen, A.S.:
"Intralyosomal formation of amyloid fibrils."
Am. J. Path. 81:101-109 (1975).

- SHOT71 Shotton, D.M.; White, N.J.; Watson, H.C.:
"Conformational changes and inhibitor binding at the active site of elastase."
In: Symp. Quant. Biol., Cold Spring Harbor, 36:91 (1971).
- SHUL52 Shulman, N.R.:
"Studies on the inhibition of proteolytic enzymes by serum. II. Demonstration that separate proteolytic inhibitors exist in serum; their distinctive properties and the specificity of their action."
J. Exp. Med. 95:539 (1952).
- SIM 79 Sim, R.; Reboul, A.; Arlaud, G.; Villiers, C.; Colomb, M.:
"Interaction of 125-I-labelled complement subcomponents C-1r and C-1s with proteinase inhibitors in plasma."
FEBS Lett. 97:111 (1979).
- SMOL78 Smolen, J.E.; Weissmann, G.:
"The Granulocyte: Metabolic Properties and Mechanisms of Lysosomal Enzyme Release."
In: Havemann, K., Janoff, A. (eds): Neutral Proteinases of Human Polymorphonuclear Leucocytes; Urban&Schwarzenberg:56 (1978).
- SOLL79 Sollott, S.J.; Galvin, M.J.; Lefer, A.M.:
"Glucocorticoid induced protection in experimental traumatic shock."
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 160:317 (1979).
- SORK70 Surkin, E.; Stecher, V.J.; Borel, J.F.:
"Chemotaxis of leucocytes and inflammation."
Ser. Haematol. 3:131 (1970).
- SOTT81a Sottrup-Jensen, L.; Petersen, T.E.; Magnusson, S.:
"Mechanism of proteinase complex formation with α_2 -macroglobulin. Three modes of trypsin binding."
FEBS Lett. 128:127 (1981).
- SOTT81b Sottrup-Jensen, L.; Petersen, T.E.; Magnusson, S.:
"Trypsin-induced activation of the thiol esters in α_2 -macroglobulin generates a short-lived intermediate ('nascent' α_2 -III), that can react rapidly to incorporate not only methylamine and putrescine but also proteins lacking proteinase activity."
FEBS Lett. 128:123 (1981).

- SOTT82 Sottrup-Jensen, L.; Hansen, H.F.:
"Nascent α_2 -macroglobulin-trypsin complex: Incorporation of amines and water at the thiol esterified C-1x residues of α_2 -m during activation with trypsin."
Biochem. Biophys. Res. Comm. 107:93 (1982).
- STAR73 Starkey, P.M.; Barrett, A.J.:
"Human cathepsin B1. Inhibition by α_2 -macroglobulin and other serum proteins."
Biochem. J. 131:823 (1973).
- STAR76a Starkey, P.M.; Barrett, A.J.:
"Human lysosomal elastase. Catalytic and immunological properties."
Biochem. J. 155:265 (1976).
- STAR76b Starkey, P.M.; Barrett, A.J.:
"Human cathepsin G. Catalytic and immunological properties."
Biochem. J. 155:273 (1976).
- STAR77a Starkey, P.M.:
"The effect of human neutrophil elastase and cathepsin G on the collagen of cartilage, tendon and cornea."
Acta Biol. Med. Germ. 36:1549 (1977).
- STAR77b Starkey, P.M.; Barrett, A.J.; Burleigh, M.C.:
"The degradation of articular collagen by neutrophil proteases."
Biochem. Biophys. Acta 483:386 (1977).
- STAR77c Starkey, Ph.M.:
"Elastase and Cathepsin G, the serine proteinases of human neutrophil leucocytes and spleen."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Proteinases in Mammalian Cells and Tissues; North Holland, Amsterdam:57 (1977).
- STAR77d Starkey, P.M.; Barrett, A.J.:
" α_2 -Macroglobulin, a physiological regulator of proteinase activity."
In: Barrett, A.J., Dingle, J.T. (eds): Proteinases in Mammalian Cells and Tissues; North Holland, Amsterdam:663 (1977).
- STEI61 Steinbuch, M.:
"Isolation of an α_2 -Globulin from human plasma."
Nature 192:1196 (1961).

- STER83 Sterrenberg, L.; Gravesen, M.; Haverkate, F.:
"Granulocyte enzyme mediated degradation of human fibrinogen
in plasma in vitro."
Thromb. Res., 31:719 (1983).
- STET51 Stetson, C.A.:
"Similarities in the mechanisms determining the Arthus and
Schwartzman phenomena."
J. Exp. Med. 94:347 (1951).
- STOL78 Stollar, B.D.; Rezuze, W.:
"Separation of anti-histone antibodies from nonimmune histone
precipitating serum proteins, predominantly
 α_2 -macroglobulin."
Arch. Biochem. Biophys. 190:398 (1978).
- STON79 Stone, P.J.; Calore, J.D.; Snider, G.L.; Franzblau, C.:
"The dose-dependant fate of enzymatically activ and
inactivated titrated methylated pancreatic elastase
administered intratracheally in the hamster."
Am. Rev. Resp. Dis. 120:577 (1979).
- STRA78 Stracher, A.; McGowan, E.B.; Shafiq, S.A.:
"Muscular dystrophy: Inhibition of degeneration in vivo with
protease inhibitors."
Science 200:50 (1978).
- STUR79 Sturm, J.A.; Lewis, F.R.; Trentz, O.; Östern, H.J.; Tschernie, H.:
"Cardiopulmonary parameters and prognosis after severe
multiple trauma."
J. Trauma 19:305 (1979).
- SUSS69 Suss, R.H.; Fenton, J.W.; Murashi, F.F.; Miller, K.D.:
"Two distinct elastases from different strains of *Pseudomonas*
aeruginosa."
Biochim. Biophys. Acta 191:179 (1969).
- SUVA80 Suvalskaya, L.A.; Tsybin, Yu.N.; Galtseva, I.V. et al.:
"Kallikrein-kinin and blood koagulation systems in traumatic
shock."
Klin. Med. (Moskau) 58:97 (1980).
- SWEN79 Swenson, R.P.; Howard, J.B.:
"Structural characterization of human α_2 -macroglobulin
subunits."
J. Biol. Chem. 254:4452 (1979).

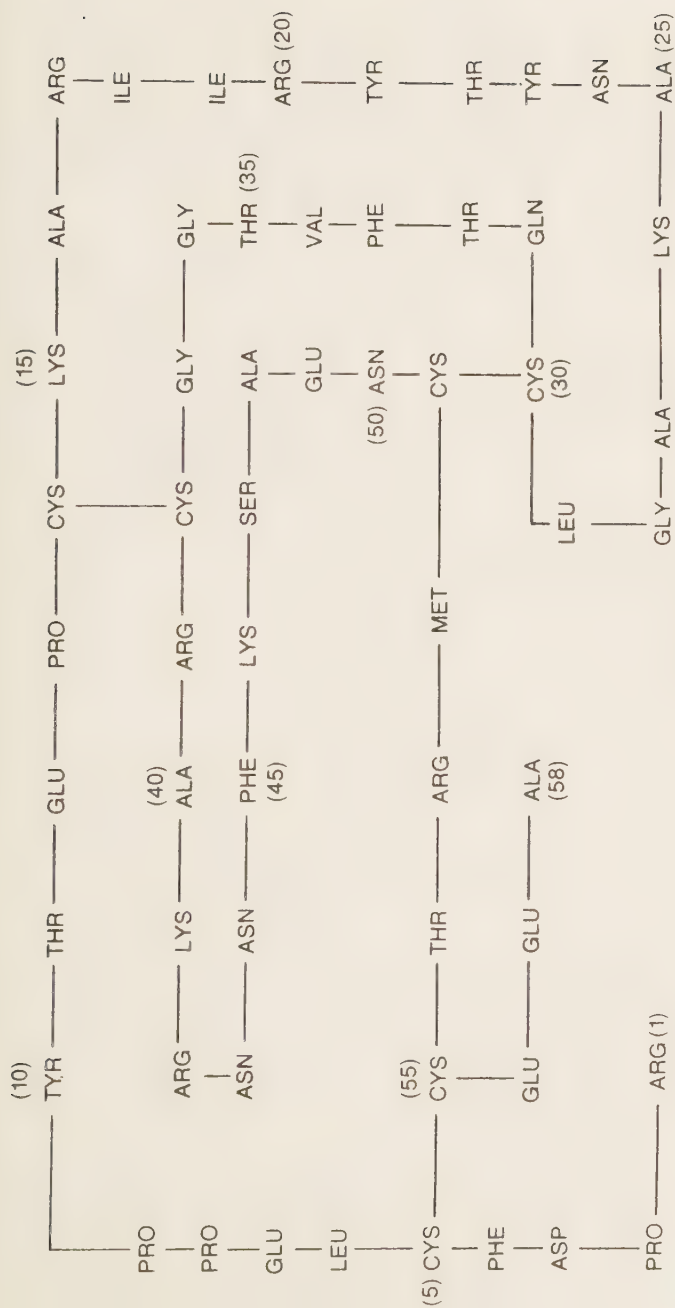
- SYLV74 Sylven, B.:
"Biochemical factors involved in the cellular detachment from tumors."
Schw. Med. Wschr. 104:258 (1974).
- TAKA83 Takaki, A.; Enfield, D.L.; Thompson, A.R.:
"Cleavage and inactivation of Factor IX by granulocyte elastase."
J. Clin. Invest., 72:1706 (1983).
- THOM52 Thomas, L.; Good, R.A.:
"Studies on the generalized Shwartzman reaction. I. General observations concerning the phenomenon."
J. Exp. Med. 96:605 (1952).
- THOM60 Thomas, J.; Partridge, S.M.:
"The chemistry of connective tissues. V. The elastase activity of proteolytic enzymes."
Biochem. J. 74:600 (1960).
- THOM73 Thompson, R.C.; Blout, E.R.:
"Peptide chloromethyl ketones as irreversible inhibitors of elastase."
Biochem. 12:44 (1973).
- TRAU64 Trautschold, I.; Werle, E.; Haendle, H.; Sebening, G.:
"Neuere experimentelle Ergebnisse über Proteinaseinhibitoren."
In: Heinkel, K. (ed): Pathologie, Diagnose, Klinik und Therapie der Erkrankungen des exokrinen Pankreas; Schattauer, Stuttgart:289 (1964).
- TRAV73 Travis, J.; Pannell, R.;;
"Selective removal of albumin from plasma by affinity chromatography."
Clin. Chim. Acta 49:49 (1973).
- TRAV78a Travis, J.; Bowen, J.; Baugh, R.:
"Human α_1 -antichymotrypsin: Interaction with chymotrypsin-like proteinases."
Biochem. 17:5651 (1978).

- TRAV78b Travis, J.; Baugh, R.; Giles, P.J.; Johnson, D.; Bowen, J.; Christopher.:
"Human leucocyte Elastase and cathepsin G: Isolation,
characterization and interaction with plasma proteinase
inhibitors."
in: Havemann, K., Janoff, A. (eds): Neutral Proteases of Human
Polymorphnuclear Leucocytes; Urban&Schwarzenberg, München:118
(1978).
- TRAV79 Travis, J.; Giles, P.J.; Porcelli, L.; Baugh, R.; Powers, J.; Keilly, C:
"Human leucocyte elastase and cathepsin G: structural and
functional characteristics."
Ciba Found. Symp. 75:51 (1980).
- TRAV82 Travis, J.; Salvesen, G.S.:
"Human plasma proteinase inhibitors."
Ann. Rev. Biochem. 52:655 (1982).
- TSCH81 Tschesche, H.; McCartney, H.W.:
"A new principle of enzymic activity. Activation and
regulation of human polymorphnuclear leucocyte collagenase via
disulfide-thiol exchange as catalysed by the glutathione cycle
in a peroxidase-coupled reaction to glucose metabolism."
Eur. J. Biochem. 120:183 (1981).
- VAAG80 Vaage, J.:
"The role of platelets in post-traumatic pulmonary
insufficiency."
Acta Chir. Scand. Suppl. 499:141 (1980).
- VANL81 Van Leuven, F.; Cassiman, J.-J.; Van den Berghe, H.:
"Functional modifications of α_2 -macroglobulin by primary
amines. II. Inhibition of covalent binding of trypsin to
 α_2 -m by methylamine and other primary amines."
J. Biol. Chem. 256:9023 (1981).
- VIRC82 Virca, G.D.:
"Characterization studies on human plasma
 α_2 -macroglobulin."
PhD thesis, Univers. Georgia, Athens (1982)
- VIRC83 Virca, G.D.; Salvesen, G.S.; Travis, J.:
"Human neutrophil elastase and cathepsin G cleavage sites in
the bait region of α_2 -macroglobulin. Proposed structural
limits of the bait region."
Hoppe Seylers Z Physiol Chem, 364:1297 (1983).

- VIRC84 Virca, G.D.; Travis, J.:
"Kinetics of association of human proteinases with human
alpha₂-macroglobulin."
J. Biol. Chem., 259:8870 (1984).
- WACH83 Wachtfogel, Y.T.; Kucich, H.; James, H.L.; Scott, C.F.:
"Human plasma kallikrein releases neutrophil elastase during
blood coagulation."
J. Clin. Invest., 72:1672 (1983).
- WALF62 Walford, R.L.; Kikkhöfen, B.:
"Selective inhibition of elastolytic and proteolytic
properties of elastase."
Arch. Biochem. Biophys. 98:191 (1962).
- WARD73 Ward, P.A.; Chapitis, J.; Conroy, M.D.:
"Generation by bacterial of leucotactic factors from human
serum and human C-3 and C-5'."
J. Immunol. 110:1003 (1973).
- WEIS72 Weissmann, G.; Zurier, R.B.; Hoffstein, S.:
"Leukocytic proteases and the immunologic release of lysosomal
enzymes."
Am. J. Path. 68:539 (1972).
- WEIS72b Weissmann, G.; Rita, G.A.:
"Molecular basis of gouty inflammation. Interaction of
monosodium urate crystals with lysosomes and liposomes."
Nature New Biol. 240:167 (1972).
- WEIS74 Weissmann, G.:
"Mediators of inflammation."
Weissmann, G. (ed): Plenum Press, New York (1974).
- WERB75 Werb, Z.; Gordon, S.:
"Elastase secretion by stimulated macrophages.
Characterization and regulation."
J. Exp. Med. 142:361 (1975).
- WERL61 Werle, E.; Trautschold, I.:
"Bestimmung des Kallikrein-Inaktivators 'Trasylol'^R im Blut
und in Organen und seine Verteilung nach Injektionen."
Münchn. Med. Wschr. 103:773 (1961).

- WILK73 Wilkens, H.J.; Back, N.:
"Die Lunge als Erfolgsorgan beim anaphylaktischen Schock des Hundes: Wirkung von chemischen Mediatoren, Proteasen und Proteaseninhibitoren."
Neue Aspekte der Trasyloltherapie, 6:105 (1973).
- WILL28 Willstätter, R.; Banann, E.:
"Über die Proteasen der Magenschleimhaut. Erste Abhandlung über die Enzyme der Leukozyten."
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 180:127 (1928).
- WIMA77 Wiman, B.; Collen, D.:
"Purification and characterization of human antiplasmin, the fast acting plasmininhibitor in plasma."
Eur. J. Biochem. 78:19 (1977).
- WIMA78 Wiman, B.; Collen, D.:
"On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and plasmin."
Eur. J. Biochem. 84:573 (1978).
- WIMA79 Wiman, B.; Collen, D.:
"On the mechanism of the reaction between human α_2 -antiplasmin and plasmin."
J. Biol. Chem. 254:9291 (1979).
- WIMA81 Wiman, B.:
"Human α_2 -antiplasmin."
Methods Enzymol. 80:395 (1981).
- WINT84 Wintroub, B.U.; Klickstein, L.B.; Dzau, V.J.; Watt, K.W.:
"Granulocyte-angiotensin system. Identification of angiotensinogen as the plasma protein substrate of leucocyte cathepsin G."
Biochem. 23:227 (1984).
- WOOL75 Woolley, D.E.; Roberts, D.R.; Evanson, J.M.:
"Inhibition of human collagenase activity by a small molecular weight serum protein."
Biochem. Biophys. Res. Commun. 66:747 (1975).
- WOOL76 Woolley, D.E.; Roberts, D.R.; Evanson, J.M.:
"Small molecular weight β_2 -serum protein which specifically inhibits human collagenase."
Nature 261:325 (1976).

- WOOL77 Woolley, D.E.; Crossley, M.J.; Evanson, G.M.:
"Collagenase at sites of cartilage erosion in the rheumatoid joint."
Arthritis Rheum. 20:1231 (1977).
- WRET77 Wretling, B.; Wadstrom, T.:
"Purification and properties of a protease with elastase activity from 'Pseudomonas aeruginosa'."
J. Gen. Microbiol. 103:319 (1977).
- WU 81 Wu, K.; Wang, D.; Feinman, R.D.:
"Inhibition of proteases by alpha₂-macroglobulin."
J. Biol. Chem. 256:10409 (1981).
- ZIGM73 Zigmond, S.H.; Hirsch, J.G.:
"Leucocyte locomotion and chemotaxis. New methods for evaluation and demonstration of a cell-derived chemotactic factor."
J. Exp. Med. 137:387 (1973).
- ZIMM71 Zimmermann, W.E.; Vogel, W.; Mittermayer, Ch.; Walter, F.; Kuner, E.:
"Gasaustausch- und metabolische Störungen beim traumatisch-hämorrhagischen und septischen Schock und ihre therapeutische Beeinflussung."
Neue Aspekte der Trasyloltherapie; 5:147 (1971).
- ZUR173a Zurier, R.B.; Hoffstein, S.; Weissmann, G.:
"Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leucocytes. I. Effect of cyclic nucleotides and colchicine."
J. Cell. Biol. 58:27 (1973).
- ZUR173b Zurier, R.B.; Hoffstein, S.; Weissmann, G.:
"Cytochalasin B: Effect on lysosomal enzyme release from human leucocytes."
Proc. Nat. Acad. Sci. 70:844 (1973).



Aktivatoren:

Plasmin (Fibrinolyse-System)

Trypsin (Pankreas)

F XII (Blutgerinnungssystem)

Cl-Esterase (Komplementsystem)

Kathepsine (Lysosomen)

Kallikreinogen
(Plasma und Gewebe)

(A)

← HMW Kininogene

Aktivatoren:

Trypsin

Plasmin

Thrombin

Schlangengift

Epinephrin

Harn- und Pankreas-Kallikrein

(B)

Plasma-Kallikrein

Kininogen
(α 2-Globulin)

(H⁺)

Plasma-Aminopeptidase

Kinin

(Bradykinin — 9)

Kinin

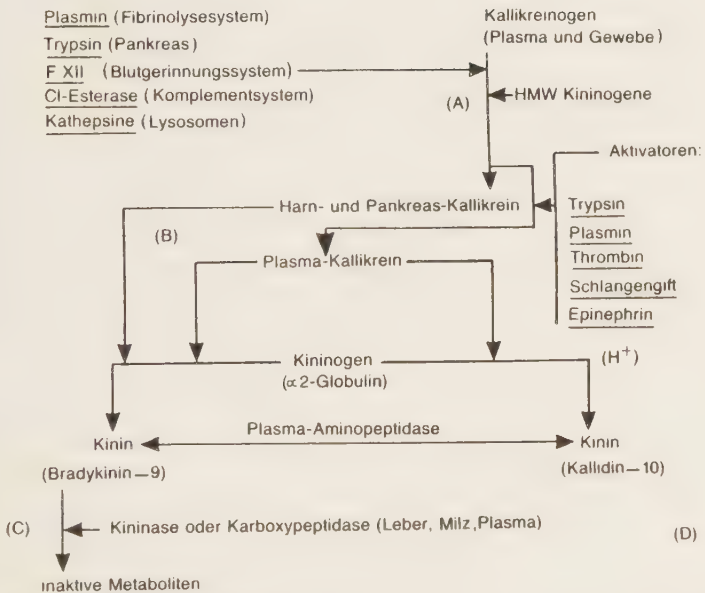
(Kallidin — 10)

(C)

← Kininase oder Karboxypeptidase (Leber, Milz, Plasma)

(D)

inaktive Metaboliten



Danksagung

Ich danke Herrn Professor Heberer, daß er mir die Möglichkeit gab, in seiner Chirurgischen Klinik zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozenten Dr med. Dittmer, der mich stets freundlich und mit bewundernswerter Geduld unterstützte und förderte.

Für die freundliche Prüfung auf biochemische Richtigkeit danke ich Herrn Privatdozenten Dr med. Neumeier.

Weiter bedanke ich mich bei Frau Jantschek und Frau Stocker für ihre unschätzbare, ausdauernde Hilfe bei den umfangreichen Literaturrecherchen.

Meiner Familie, besonders meinem Vater, danke ich für die vielfältige Unterstützung in den vergangenen Jahren, ohne die diese Arbeit schwerlich hätte vollendet werden können.

LEBENS LAUF

Name: Ralph Paul Hermann Göhre

Geburtsdatum: 29. März 1954

Geburtsort: Hannover

Familienstand: ledig

- Ausbildung:
- 1974 Reifeprüfung am mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium in Grafing
 - 1974 Studium der Informatik und Physik an der Technischen und der Ludwig Maximilian Universität in München
 - 1978 Studium der Medizin (Vorklinik) an der Freien Universität Berlin
 - 1980 Studium der Medizin (klinische Ausbildung) an der Ludwig Maximilian Universität in München
 - 1980 Famulatur am Städtischen Krankenhaus Harlaching
 - 1981 Famulatur an dem Städtischen Krankenhaus in San Diego, Kalifornien, USA
 - 1981 Famulatur in der internistischen Praxis von Herrn Prof. Dr med. Borchers
 - 1982 Famulatur an dem Kreiskrankenhaus in King Williams Town, Republik von Südafrika
 - 1983 Praktisches Jahr im Klinikum Großhadern/München, Chirurgie bei Prof. Heberer (allgemein und Traumatologie) und Prof. Klinner (Herzchirurgie), Innere Medizin bei Prof. Riecker (Kardiologie), Wahlfach Orthopädie bei Prof. Jäger
 - 1984 Erfolgreicher Studienabschluß und Erteilung der Approbation als Arzt vom Bayerischen Staatsministerium des Inneren

Berufliche Tätigkeiten:

- 1984 Assistenzarzt in der gynäkologischen Klinik in Prien
- 1985 Assistenzarzt in der Abteilung für Anästhesiologie am Klinikum Köln - Merheim (Prof. Dr med. Döhn)
- 1986 Assistenzarzt in der Herzchirurgischen Klinik am Zentralklinikum Augsburg (Prof. Dr med. Struck).

